



Revue Francophone des Laboratoires



**Volume 2016, Issue 480,
Pages 3-90
(Mars 2016)**



[LEMONDEDESPHARMACIENS](http://www.lemonedespharmaciens.com)



[LEMONDEDESPHARMACIENS](https://www.facebook.com/lemonedespharmaciens)



[#LemondedesPharm](https://twitter.com/LemondedesPharm)

Elsevier Masson SAS
Société par actions simplifiées
à associé unique
au capital de 47 275 384 €
RCS Nanterre B 542 037 031
62, rue Camille-Desmoulins
92130 Issy-les-Moulineaux



Tél./Fax: 01 71 16... + les 4 chiffres
de votre correspondant
<http://www.elsevier-masson.fr>

PRÉSIDENT ET DIRECTEUR DE LA PUBLICATION :
Daniel Rodriguez

DIRECTRICE DES REVUES PROFESSIONNELLES
Yasmina Ouharzoune
y.ouharzoune@elsevier.com

RÉDACTRICE EN CHEF :
Martine Tirouche
m.tirouche@elsevier.com

CONSULTANT SCIENTIFIQUE DE LA RÉDACTION :
Claude Naudin
clinaudin@numericable.fr

COLLABORATEURS DE LA RÉDACTION :
Revue de presse :
Joël Gozlan, Marie-Caroline Le Bousse-Kerdilès,
Vincent Maréchal, Michel Segondy
Actualités — Santé publique — Veille juridique :
Jean-Marie Manus

FAX-RÉDACTION : 01 71 16 51 59

MARKETING — RESPONSABLE DE MARCHÉ :
Sonia Tadjdet (58 60)
s.tadjdet@elsevier.com

PUBLICITÉ — DIRECTEUR DES VENTES :
Jean-Marie Pinson (53 10)
Mobile: 06 15 72 16 73
j.pinson@elsevier.com

SERVICE ABONNEMENTS :

Tél. : 01 71 16 55 99 – Fax : 01 71 16 55 77
<http://www.em-consulte.com/infos>

PAO : humancom, 48 rue de Dantzig, 75015 Paris.
IMPRESSION :
Lescure Théol, 27 Douains.

Copyright© 2016 — Elsevier Masson SAS — Tous droits réservés. Cette publication et son contenu sont protégés par le copyright de Elsevier Masson SAS, et les dispositions suivantes s'appliquent à son utilisation : Les simples photocopies d'articles isolés sont autorisées pour un usage privé, dans la mesure où les lois nationales relatives au copyright le permettent. L'autorisation de l'éditeur et le paiement de redevances est obligatoire pour toutes les autres photocopies, y compris les copies multiples ou systématiques, les copies effectuées à des fins promotionnelles ou de publicité, la revente et toute autre forme de distribution de documents. Des tarifs spéciaux sont disponibles pour les institutions d'enseignement qui souhaitent faire des photocopies à des fins non commerciales d'enseignement. Les personnes peuvent obtenir les autorisations nécessaires et payer les redevances correspondantes auprès du Centre Français d'Exploitation du Droit de la Copie (20, rue des Grands-Augustins, F - 75006 Paris). Les abonnés sont autorisés à effectuer des copies des tables des matières, ou établir des listes d'articles comprenant des extraits pour un usage interne à l'intérieur de leurs institutions. L'autorisation de l'éditeur est requise pour toute revente ou divulgation en dehors de l'institution. L'autorisation de l'éditeur est requise pour tous autres travaux dérivés, y compris les compilations et les traductions. L'autorisation de l'éditeur est requise pour saisir de façon électronique tout élément contenu dans la présente publication, y compris tout ou partie d'un article. Prière de prendre contact avec l'éditeur à son adresse indiquée ci-dessus. À l'exception de ce qui est indiqué ci-dessus, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite, saisie dans un système de sauvegarde, ou transmise sous quelque forme que ce soit, électronique, mécanique, par photocopie, enregistrement ou autre, sans l'autorisation préalable et écrite de l'éditeur. La responsabilité de l'éditeur ne saurait en aucune façon être engagée pour tout préjudice et/ou dommage aux personnes et aux biens, que cela résulte de la responsabilité du fait des produits, d'une négligence ou autre, ou de l'utilisation de tous produits, méthodes, instructions ou idées contenus dans la présente publication. En raison de l'évolution rapide des sciences médicales, l'éditeur recommande qu'une vérification extérieure intervienne pour les diagnostics et la posologie.

CPPAP 0117 T 81120 – ISSN 1773-035x
Dépôt légal : à parution

Couverture

© Dennis Kunkel Microscopy, Inc. / BSIP

Index des annonceurs

CML-ID	15
Elsevier Masson	4 - 32 - 46 - 54
GL events	22
Ingen	13
Meridian	11
Orho Clinical Diagnostic	4 ^e de couv.
Reed Exhibitions	7
Siemens	2 ^e de couv

édito

Tempête sur les vaccins, ces mal-aimés

Il était temps que le ministère de la Santé, appuyé par les Sages de l'Académie nationale de médecine, souhaite reprendre en main la communication médicale et grand-public sur sa politique vaccinale, alors que les propos négationnistes et les proclamations délétères ont déjà sapé dans l'opinion l'image des vaccins et leur utilité, sans qu'il intervienne chaque fois qu'un *leader d'opinion* autoproclamé (parfois issu du corps médical!) les diffamait.

L'Académie de médecine (ANM), qui vient d'entendre la ministre de la Santé sur son *Plan d'action pour la rénovation de la politique vaccinale*, et le Conseil national de l'Ordre des médecins (CNOM) ont beau jeu de dire aux Français que «la vaccination est le moyen le plus efficace pour assurer la protection de nos concitoyens contre certaines maladies contagieuses, à titre individuel et collectif».

Parce que la notion de couverture vaccinale nationale pour stopper la circulation des vecteurs est inconnue de l'opinion: on ne lui a jamais expliqué. Parce que rendre *obligatoires* certains vaccins c'est heurter l'esprit frondeur des Français (*dans un pays où le plaisir de contester l'action publique est grand*, dit le Pr François Bricaire, éminent infectiologue). Parce que les autres vaccins ne sont que *recommandés*, ce qui veut dire pour les Français (les parents pour leurs enfants!) de décider de ne pas les pratiquer: s'ils ne sont pas obligatoires, c'est «que ce n'est pas grave sauf quand c'est grave» (slogan aberrant d'une ancienne campagne de vaccination!).

ANM et CNOM ont aussi dit que «l'hépatite B, les infections à papillomavirus oncogènes en cause dans le cancer du col de l'utérus notamment, ou les méningites à méningocoques, pour lesquelles la vaccination est seulement recommandée, ont paradoxalement un bilan plus lourd que des maladies pour lesquelles la vaccination est obligatoire». Est-il normal qu'aujourd'hui des enfants non vaccinés meurent de la rougeole?

Fabienne Keller, sénatrice du Bas-Rhin, a alerté la ministre de la Santé sur les publications antivaccinalistes, dangereuses pour les familles, d'un membre du corps médical. Cette mise en garde n'est sans doute pas étrangère à la décision des conseillers en santé publique du ministère de proposer ce plan d'action, qui prévoit en fin d'année un grand déballage des opinions des pour et des contre.

Débat d'idées ou foire d'empoigne?

RFL

Conseil scientifique

PRÉSIDENT : Paul LAFARGUE (Paris).

BUREAU : Bruno BAUDIN (Paris), Dominique CHABASSE (Angers), Alain CHEVAILLER (Angers), Éric GARNOTEL (Marseille), Michèle IMBERT (Créteil), Marie-Laure JOLY-GUILLOU (Angers), Marc MAYNADIÉ (Dijon), Michel SEGONDY (Montpellier).

COMITÉ :

MEMBRES FRANÇAIS : Frédéric BARBUT (Paris), Patrice BOURÉE (Le Kremlin-Bicêtre), René CHERMETTE (Maisons-Alfort), Claude GUIGUEN (Rennes), Paul HOFMAN (Nice), François JEHL (Strasbourg), Saïd KAMEL (Amiens), Marie-Nathalie KOLOPP-SARDA (Lyon), Jean-Jacques LATAILLADE (Clamart), Jean-Philippe LAVIGNE (Nîmes), Jérôme LE GOFF (Paris), Michèle MALET (Caen), Vincent MARÉCHAL (Paris), Denis MASSIGNON (Lyon), Thierry MOLINA (Paris).

MEMBRES ÉTRANGERS : Smail BELAZZOUG (Algérie), Ahcène DEMBRI (Algérie), Hicham OUAZZANI (Maroc), Lassaad SARRAI (Tunisie), Abderrahim TAZI (Maroc).

MEMBRES HONORAIRES : Marie-Hélène BESSIÈRES (Toulouse), Jean-Louis KOECK (Bordeaux), Anne-Marie MANEL (Champagne-au-Mont-d'Or), Jean-Claude NICOLAS (Chatou/Princeton, USA), Michel VAUBOURDOLLE (Paris).

Abusus non tollit usum

Prestations de conseil (9)

Le savoir «fer»

Une évaluation de carence martiale difficile

La carence en fer constitue le trouble nutritionnel le plus répandu dans le monde et la première cause d'anémie. L'anémie microcytaire constitue le stade ultime précédé d'un manque de fer fonctionnel où la demande dépasse l'offre, suivi d'un abaissement progressif des réserves ou carence absolue.

Elle est présente dans de nombreuses affections chroniques, notamment chez les patients atteints de maladies intestinales inflammatoires, de maladies infectieuses sévères ou systémiques, d'insuffisance cardiaque ou rénale.

La pertinence et l'efficacité du suivi des patients porteurs de syndromes inflammatoires, de maladies rénales chroniques, de cytolyse, de syndromes métaboliques, de malabsorption, d'hyperthyroïdie, d'éthylisme, de diabète mal équilibré ou encore ceux mis sous chimiothérapie s'avèrent complexes... C'est le cas de l'histoire présentée ci-dessous.

La cascade des événements clinico-biologiques

Une femme de 62 ans vient au laboratoire, à la demande du service de médecine interne du CHU, pour un bilan biologique dans le cadre du suivi de son lupus systémique qui est traité depuis 5 ans par antipaludéen et de son syndrome des antiphospholipides (ATCD d'infertilité, AVC frontal gauche, thrombose de l'artère rénale droite et infarctus rénal) traité par AVK + Kardégic® depuis 18 ans. Elle a par ailleurs été sujette dans l'année à un contexte d'infection à *Helicobacter pylori*, récemment éradiqué. Les résultats sont les suivants :

INR 3,6 ; CRP 5 mg/L ; ferritine 30 µg/L (30-450 µg/L), EPS, glycémie à jeun, TSH et transaminases normales, hémogramme normal en dehors d'une lymphopénie à 0,6 G/L ; DFG 62 ml/min/1,73 m² ; absence d'hématurie et de cylindres urinaires ; albuminurie normale ; complément C3 sérique : 0,65 g/L (0,88-1,65 g/L). L'examen d'anatomopathologie des urines signale la présence de « decoy cells » (voir encadré 1) évoquant un portage ou une infection à BK Virus (Polyomavirus). Une copie de ces résultats ayant été transmise au néphrologue et au médecin généraliste de cette patiente, ce dernier vous interroge car l'interniste, considérant l'existence d'une carence martiale a prescrit du Tardyféron® (160 mg/j) ainsi qu'une endoscopie digestive, alors que le néphrologue a interprété ce bilan martial comme étant normal. Cette divergence d'interprétation a fortement contrarié la patiente.

Encadré 1

Decoy cells

Les « decoy cells » dans les urines sont les témoins de l'effet cytopathogène des Polyomavirus (famille des Papovavirus-virus JC et BK) et les marqueurs d'activation et de réplication virale.

Elles aboutissent à des modifications morphologiques des cellules urothéliales et rénales du fait des inclusions virales nucléaires. Les « decoy cells » typiques sont caractéristiques en raison de leur noyau très arrondi, excentré, à la chromatine laquée. Elles sont également appelées « cellules en comète » en raison de l'aspect effilé en queue de comète du cytoplasme.

Source : M. Thoulouzan et col. Prog Urol, 2010, 20, 1, 11-16

Première réponse

Le biologiste s'enquiert de l'anamnèse pouvant justifier d'une interprétation spécifique du taux de ferritine, sachant que le lupus est quiescent en dehors de quelques arthralgies au poignet gauche et que le syndrome des antiphospholipides est asymptomatique. La ferritinémie est subnormale, certes dans un contexte d'infection récente à *Helicobacter pylori* traitée, mais elle est interprétable car il n'existe ni syndrome inflammatoire, ni insuffisance rénale ou cytolyse. La lymphopénie peut, quant à elle, justifier la recherche de Polyomavirus urinaires par PCR.

Les seuils de la ferritine prédictifs d'une carence martiale en l'absence de syndrome inflammatoire, de cytolyse ou de MRC sont de 95 % en dessous de 20 µg/L chez l'homme et la femme ménopausée et de 50 % entre 20 et 45 µg/L.

Le biologiste qui n'a pas noté d'anomalies de la lignée rouge dans l'hémogramme ne considère donc pas l'existence d'une carence martiale.

Un an après cet épisode, la patiente qui a été perdue de vue, sera hospitalisée pour hypertension sévère et œdèmes des membres inférieurs. Son bilan révèle une hémoglobine à 96 g/L ; une réticulocytose de 0,2 % ; une CRP à 54 mg/L ; une ferritinémie à 70 µg/L ; un DFG de 45 ml/min/1,73 m² ; une protéinurie 0,6 g/L ; une natrémie à 129 mmol/L ; une kaliémie 5,4 mmol/L (avec plasma non hémolysé) ; une calcémie corrigée à 1,95 mmol/L ; une phosphatémie à 2,3 mmol/L et des bicarbonates à 16 mmol/L. Après cet épisode d'insuffisance rénale rapidement progressive, un bilan de contrôle confirme en ambulatoire la persistance d'un DFG à 40 ml/min/1,73 m² avec un taux d'hémoglobine à 99 g/L ; une CRP à 40 mg/L ; une ferritinémie à 60 µg/L et un coefficient de saturation à 18 %.

L'appréciation précise du statut martial faisant partie intégrante de l'instauration du parcours de soins global de tout malade rénal chronique, en amont du contact avec le néphrologue, son médecin traitant vous interroge pour savoir s'il vous paraît utile en 1^{re} approche, de prescrire un agent stimulant de l'érythropoïèse (ASE).

Deuxième réponse

Il s'agit maintenant d'une authentique maladie rénale chronique pour laquelle les seuils d'interprétation du taux de ferritine sont différents (voir encadré 2). L'anémie de l'IR peut être la conséquence d'un déficit d'érythropoïétine, et/ou d'un syndrome inflammatoire et/ou d'une carence en fer par réduction de l'absorption intestinale voire d'une carence vitaminique. Il est donc ici important de rechercher une cause curable de l'anémie autre que l'IR.

Encadré 2

Ferritine et seuils de décision

Chez l'adulte et hors grossesse:

- Un coefficient de saturation (CS) de la transferrine < 15 % est un marqueur peu précoce et peu spécifique de la carence martiale car il peut diminuer également en cas de syndrome inflammatoire. La transferrine est sujette à des variations même en dehors d'un état inflammatoire. La HAS ne recommande pas le CS en dépistage de la carence martiale en 1^{re} intention.
- Une ferritine abaissée possède une sensibilité et une spécificité excellentes vis-à-vis d'une carence martiale isolée. Un taux < 30 µg/L chez l'homme jeune et la femme ménopausée (ou < 13 µg/L chez la femme jeune) est spécifique d'une carence martiale,

imposant une correction thérapeutique et une recherche étiologique à moduler selon l'âge et le terrain.

- Une ferritine > 100 µg/L rend l'hypothèse de carence martiale peu probable dans cette tranche de population, même si la CRP est au-delà de 30 mg/L.
- En présence d'une maladie rénale chronique, une carence en fer peut être patente malgré des résultats « normaux » de ferritine en raison d'un déficit fonctionnel de fer, en dépit de réserves suffisantes. Devant tout patient insuffisant rénal porteur d'une anémie, il est recommandé de rechercher systématiquement une cause extrarénale de l'anémie en particulier la carence en fer et

de la traiter. L'objectif est alors de maintenir chez ces patients insuffisants rénaux une ferritinémie > 100 µg/L (200 µg/L en cas d'hémodialyse) ou un coefficient de saturation de la transferrine > 20 % ou un pourcentage des GR hypochromes < 6 %.

- Dans la zone grise de ferritinémie entre 30 et 100 µg/L, l'absence d'inflammation (CRP < 30 mg/L), de MRC associées à une clinique non évocatrice permet d'affirmer une réserve martiale correcte. Chez les patients porteurs d'une inflammation, d'une MRC, d'une malabsorption ou sous chimiothérapie, l'évaluation de la carence martiale doit être faite, conjointement à l'hémogramme, à l'aide d'indices sensibles à cette évaluation.

En cas d'IR, une anémie significative couplée à un taux de ferritine < 100 µg/L (le coefficient de saturation < 20 % manque de spécificité), est en faveur d'une carence martiale que confirmera un pourcentage des GR hypochromes > 6 %.

Tout traitement par ASE est systématiquement associé à un traitement par le fer et est réservé aux médecins spécialisés.

À retenir

Le dosage du fer sérique, seul, n'a aucun intérêt et doit être proscrit. Le bilan martial de première intention se limite à la ferritine si la carence est isolée.

Le dosage des récepteurs solubles (RTf1s) bien que discuté, présente un intérêt pour certains auteurs (*voir encadré 3*). Le dosage de l'hepcidine (*voir encadré 4*) constituera sans doute prochainement un recours complémentaire lorsque ses techniques de dosage seront standardisées et les seuils décisionnels validés.

Il est capital de faire le diagnostic différentiel entre une anémie inflammatoire isolée où l'administration de fer est contre-indiquée, une anémie mixte (ferriprive + inflammatoire) et enfin, une carence martiale isolée. La pédiatrie et le suivi de grossesse relèvent également de seuils décisionnels physiologiques appropriés. Le biologiste se doit d'apporter une expertise contributive en connaissant la hiérarchie des marqueurs à utiliser graduellement dans ces situations, les seuils décisionnels afférents et en procédant à une interprétation pertinente du contexte clinique pour ne pas passer à côté de l'origine multifactorielle d'une anémie induisant des errances diagnostiques et/ou thérapeutiques.

Enfin, c'est juste notre avis

Fabrice Guerber
fabrice.guerber@oriade.fr
Claude Naudin
clnaudin@numericable.fr

Encadré 3

Récepteurs de la transferrine

Le gène TFR1 code pour le récepteur de la transferrine (RTf1). Le produit de clivage de RTf1 libéré dans le plasma est appelé récepteur soluble (RTfs). Le taux de RTfs s'élève en cas d'activité érythroïde augmentée. Il en est de même en cas de carence martiale: les « Iron Regulatory Protein » (IRP) stabilisent l'ARNm RTf1 par une liaison aux « Iron Responsive Element » (IRE) entraînant une augmentation de la synthèse protéique.

L'élévation du taux de (sTfR > 2 mg/L) plaidera pour une carence martiale pure alors que sa normalité (< 1 mg/L) sera en faveur d'une anémie inflammatoire. Entre 1 et 2 le recours aux index hématologiques sera précieux.

Le calcul de l'index RTfs / log ferritine (valeur seuil < 1,5) permet l'évaluation optimale de la carence martiale.

Encadré 4

Hepcidine

Peptide synthétisé au niveau du foie (gène HAMP situé sur le chromosome 19), il régule la concentration du fer circulant. Le rein est également producteur, mais l'hepcidine rénale n'influence pas le métabolisme du fer; elle jouerait un rôle protecteur contre les infections urinaires.

L'hepcidine hépatique exerce un rôle inhibiteur de l'absorption duodénale du fer (membrane apicale de l'entérocyte) et le relargage de celui-ci par les macrophages.

L'absence ou la baisse de l'hepcidine provoque une surcharge en fer tandis que son augmentation entraîne l'anémie.

BRÈVES



© Maria Moroz

Asthme, rhume des foins et séjour à la ferme

Les enfants ayant vécu leur première année dans une ferme bénéficieraient à l'âge adulte d'une protection contre l'asthme et le rhume des foins (hay fever). C'est un fait déjà commenté par le passé, que des chercheurs canadiens ont vérifié à leur tour dans l'étude du *Saskatchewan Rural Cohort Study Group*. Donna C. Rennie (*Canadian Centre for Health and Safety in Agriculture*, Université du Saskatchewan) et coll. ont cherché à évaluer l'importance des différentes périodes de la vie marquées par la résidence dans un environnement fermier au Canada par rapport à l'asthme et au rhume des foins. Leur enquête s'est effectuée par questionnaires dans la province du Saskatchewan rural, selon le type de résidence fermière : première année de vie, première année et resté à la ferme, autres types de résidence fermière, absence de résidence en ferme, etc. Au total, 7 148 réponses ont pu être exploitées, qui montrent que la première année à la ferme est protectrice pour le futur, avec un risque plus masculin que féminin.

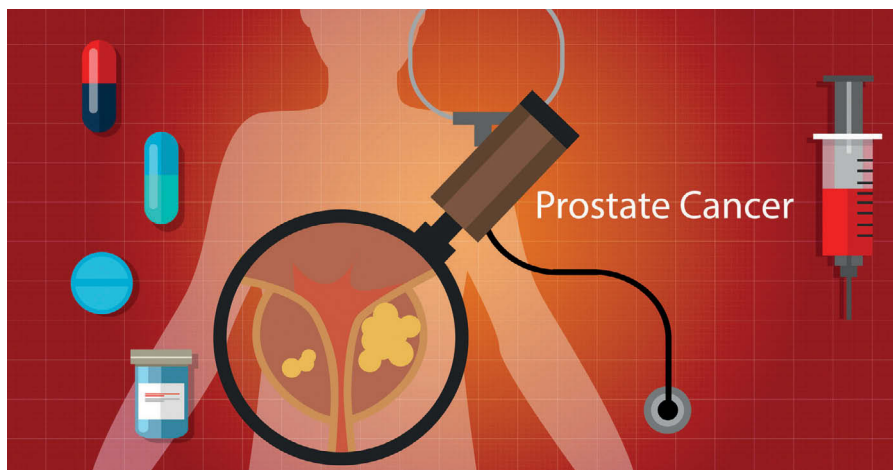
Source : *J Asthma*. 2015;doi:10.3109/02770903.2015.1058394.

Diabète de type 2 et incidence de fractures

Une étude entreprise par des diabétologues israéliens avec des confrères américains, suédois et

polonais avait pour objectif d'évaluer l'incidence du risque de fractures chez les diabétiques de type 2 traités par les nouvelles molécules apparues, mais en fonction de facteurs de risque mal compris. Une étude ayant montré que les thiazolidinediones étaient susceptibles d'augmenter le risque de fractures ostéoporotiques, les auteurs ont cherché à évaluer si un risque était lié à une autre des molécules récentes, la saxagliptine (étude SAVOR-TIMI 53), en comparant 8 280 patients diabétiques sous saxagliptine à 8 212 sous placebo. Durant un suivi moyen de 2,1 ans, 241 patients (2,9 %) sous saxagliptine et 240 (2,9 %) sous placebo ont eu une fracture. Le risque de fracture est associé au sexe féminin, à la durée du diabète, à l'âge, aux épisodes d'hypoglycémie et à une mauvaise observance du traitement. La durée du diabète et le surrisque fracturaire sont, pour les auteurs, une découverte intrigante.

Source : *Diabetes Care online*, doi:10.2337/dc15-1068.



© bakhtiarzein

CTC et cancer de prostate: une biopsie liquide comme guide du traitement prostate

Un test sérique expérimental d'analyse des cellules tumorales circulantes est susceptible de prédire la réponse d'un cancer prostatique au traitement hormonal, selon les résultats d'une étude présentée au Symposium sur les cancers génito-urinaires à San Francisco.

Les cellules tumorales circulantes (CTC), relarguées dans le flux sanguin par les tumeurs solides, peuvent permettre une analyse de celles-ci à partir de leur recueil, une *biopsie liquide*, selon le terme utilisé ici. Comme l'ont expliqué les auteurs, chez chaque patient on peut recueillir plusieurs types de CTC alors qu'une biopsie tissulaire unique sur une tumeur ne permettra pas forcément d'obtenir l'éventail des cellules tumorales différentes.

Une équipe du Service d'oncologie urologique du *Memorial Sloan Kettering Cancer Center* (Howard I. Scher et coll.) a évalué la valeur prédictive de la biopsie liquide pour identifier l'hétérogénéité phénotypique et génomique des CTC afin d'évaluer leur résistance possible aux traitements ciblant les récepteurs androgéniques (abiratéron, enzalutamide) chez des patients porteurs d'un cancer prostatique métastaté résistant à la castration.

Comme l'explique le Dr Scher, tous les patients ne répondent pas de façon égale à ces molécules et certains n'y ont pas de réponse. Si le test CTC est validé, il pourrait être utile pour sélectionner le

traitement auquel un patient est le plus susceptible de répondre, ce qui éviterait de le soumettre à une molécule inefficace, voire toxique.

Sur la biopsie liquide, l'équipe du Memorial Sloan Kettering effectue une coloration qui distingue les CTC selon leur forme et leur taille des autres cellules sanguines, à partir d'une plateforme analytique développée par Epic Sciences, ont-ils précisé. L'hétérogénéité tumorale a été proposée comme biomarqueur de résistance au traitement et celle des CTC peut permettre de développer des marqueurs prédictifs de sensibilité aux meilleurs traitements disponibles, propose H. Scher, dont les résultats présentés à San Francisco portaient sur 221 échantillons sanguins provenant de patients programmés pour un traitement androgénique ou par taxanes. Les scores d'hétérogénéité ne s'appliquent pas à ces derniers pour prédire une résistance au traitement.

Point essentiel, l'échantillon sanguin est facile d'accès. Les métastases du cancer de la prostate sont le plus souvent osseuses, comme dit H. Scher : « *Pensez à un patient avec 20 de ces lésions, il serait très difficile de pratiquer une biopsie [tissulaire] de toutes celles-ci* ». D'autant qu'on n'a pas la réponse attendue pour chaque lésion biopsiée. CTC, un avenir certain! ■■

J.-M. M.

Source : *Healio Hemonc*

Éric Karsenti, un biologiste honoré par sa maison

La médaille d'or du CNRS a été décernée en 2015 à Éric Karsenti, biologiste cellulaire, directeur de recherche émérite. Sa carrière au CNRS a été marquée par des découvertes majeures sur le cycle cellulaire, précise l'organisme de notre recherche scientifique.

Éric Karsenti, 67 ans, a effectué sa carrière en grande partie au Laboratoire européen de biologie moléculaire (EMBL) à Heidelberg au Département de biologie cellulaire et biophysique qu'il a fondé puis dirigé à l'EMBL. Il a été à l'initiative de l'expédition *Tara Oceans* (2009-2013), bateau-laboratoire pour l'étude de la biodiversité des océans.

D'abord chercheur au Laboratoire d'immuno-cytochimie de l'Institut Pasteur, Éric Karsenti entre en 1976 au CNRS, puis est détaché à l'Université de Californie à San Francisco (1981-1984).

À son retour, il dirige au Département de biologie cellulaire de l'EMBL une des équipes les plus influentes dans le domaine du cycle cellulaire « *en pleine explosion à cette époque* », dit le CNRS. En 1988, Éric Karsenti initie la première Conférence Jacques-Monod sur le cycle cellulaire à Roscoff, devenue depuis un rendez-vous scientifique. En 1996, il crée le Département de biologie cellulaire et de biophysique de l'EMBL, associant biologistes et physiciens. Entre 2001 et 2003, il dirige l'Institut Jacques-Monod à Paris et sera en parallèle conseiller scientifique au ministère de la Recherche, tout en poursuivant son activité à l'EMBL.

Il imaginera l'expédition scientifique autour du monde dont il rêve depuis la lecture de Darwin relatant son voyage à bord du *Beagle*. Ce sera en 2009 *Tara Oceans*.

Éric Karsenti a effectué avec son équipe à l'EMBL des découvertes majeures sur la régulation du cycle cellulaire. Pour résumer,

il a été un pionnier des approches interdisciplinaires en biologie cellulaire, en alliant mesures de forces et modélisation mathématique à la biologie de synthèse et à l'imagerie de pointe. Ses travaux ont donné lieu à plus de 200 articles scientifiques.

Féru de voile, Éric Karsenti a toujours été passionné par la mer et la vie microscopique des océans : d'où l'aventure de *Tara Oceans* avec une équipe internationale d'experts en génomique, imagerie quantitative, biologie, bio-géochimie, biogéographie, océanographie, biophysique, génétique, écologie, bio-informatique... Éric Karsenti est membre de l'Académie des Sciences depuis 1999 et Chevalier de la Légion d'honneur. Il est actuellement affecté à l'Institut de biologie de l'École normale supérieure (CNRS/ENS/INSERM), tout en restant directeur de *Tara Oceans* et visiteur à l'EMBL. ■■

J.-M. M.

Source : CNRS. www.cnrs.fr



MARQUÉ CE !

QUAND LE PALUDISME TUE ENCORE TOUTES LES MINUTES, IL EST TEMPS DE CHANGER DE MÉTHODE DE DIAGNOSTIC AU LABORATOIRE

Révolutionnez la précision diagnostique au laboratoire avec les performances du test moléculaire *illumigene*® Malaria.

Sensibilité analytique 80 000x supérieure aux méthodes conventionnelles

Bénéficiez d'une offre d'adoption exclusive sur www.meridianbioscience.eu/contacts

illumigene®



100

PARASITES/μL SONT REQUIS POUR DIAGNOSTIQUER LE PALUDISME PAR MICROSCOPIE



0,06 à 2

PARASITES/μL SONT REQUIS POUR DIAGNOSTIQUER LE PALUDISME PAR *illumigene*®



500-5 000

PARASITES/μL SONT REQUIS POUR DIAGNOSTIQUER LE PALUDISME AVEC LES TESTS DE DÉPISTAGE RAPIDES (TDR)

Meridian Bioscience, Inc.

1. *illumigene*® Malaria Package Insert, SN11102 | 2. Okell, Lucy C., et al. "Submicroscopic Infection in *Plasmodium Falciparum* -Endemic Populations: A Systematic Review and Meta Analysis." *The Journal of Infectious Diseases J INFECT DIS* 200.10 (2009): 1509-517. | 3. Abba, Katharine, et al. "Rapid Diagnostic Tests for Diagnosing Uncomplicated Non-falciparum or *Plasmodium Vivax* Malaria in Endemic Countries." *Cochrane Database of Systematic Reviews* (2014).

BRÈVES

Réforme du *numerus clausus* et besoins de santé publique

La sénatrice Laurence Cohen attire l'attention du ministère de l'Éducation nationale et de l'Enseignement supérieur sur le *numerus clausus* en 1^{re} année commune des études de santé (PACES). Par rapport à la création du *numerus clausus* en 1971, ce sont 2 000 étudiants de moins qui sont actuellement admis chaque année. Ceci expliquerait en partie le fait que, depuis 2005, la France a perdu 3 500 généralistes. Or à mesure des progrès médicaux et de l'apparition de nouveaux problèmes de santé, notamment liés au vieillissement de la population ou à l'émergence de questions de santé publique comme le sida, les besoins de la santé n'ont cessé d'augmenter, d'autant que la population française a augmenté de 15 millions d'habitants sur la même période. Ni le *pacte territoire-santé*, ni le projet de loi n° 406 (Sénat 2014-2015) relatif à la santé n'entrevoient une possible réforme du système. Le ministère compte-t-il réformer le *numerus clausus*, en fixant son application en lien avec les enjeux et besoins de santé plutôt que sur un *plafond*, comme actuellement.



© asamask92

Hépatite C, facteur de risque de Parkinson ?

Les patients ayant une hépatite C ont 2,5 fois plus de risque de maladie de Parkinson, selon une étude du Collège de médecine et du CHU de Taipei à Taiwan (Hsin-Hsi et coll.), qui a analysé les données de l'assurance-maladie de Taiwan de 2000 à 2010, regroupant 49 967 patients ayant une hépatite virale et 199 868 patients sans hépatite. Parmi les premiers (âge moyen 46 ans) 71 % avaient une hépatite B, 21 % une hépatite C et 8 % les deux. Les patients porteurs d'hépatite C avaient un surrisque de Parkinson, après ajustement sur d'autres facteurs de confusion possibles (hyperlipidémie, HTA, cardiopathie, diabète...). Ces comorbidités sont plus fréquentes chez les sujets avec hépatite vs les contrôles, notent les auteurs. L'âge est aussi un facteur de risque. Selon l'étude, les porteurs du VHB ont 34 % de moins de risque de Parkinson, les co-infectés ont 28 % de plus de risque mais n'atteignent pas la significativité statistique... Chez les porteurs de VHC, une cardiopathie augmente le risque de 65 %, une lésion crânienne de 50 %.

PARKINSON

© Kaesler Media

Source: *Neurology*, 2016;86 :1-7.



© lightpoet

Les LBM et le dépistage de l'infection à VIH, 2003-2014

Le BEH du 1^{er} décembre¹ a publié une actualisation du bilan du dépistage du VIH. L'Institut de veille sanitaire (InVS) publie chaque année les données de dépistage en laboratoires d'analyses de biologie médicale: LaboVIH.

En 2014, 89 % des LBM ont participé à LaboVIH: 91 % hospitaliers et 89 % de ville, participation variant selon la région (84 % à 100 %) et le département (20 % à 100 %).

En 2014, on estime que les LBM ont réalisé 5,27 millions de sérologies VIH, soit 80 sérologies/1 000 [79 à 81]. En 2014, les LBM de ville ont réalisé environ 76 % des sérologies VIH. Après avoir augmenté en 2011 (+4 %, $p < 10^{-3}$), le nombre de sérologies s'est stabilisé en ville. À l'hôpital, ce nombre a augmenté jusqu'en 2014 (+11 % entre 2010 et 2014; $p < 10^{-3}$); 7 % des sérologies ont été réalisées dans un cadre anonyme (le plus souvent en CDAG/Ciddist), proportion stable dans le temps, soit environ 351 000 sérologies.

Le nombre de sérologies VIH confirmées positives en 2014 est estimé à 11 013 [10 435-11 592], soit 167 [158-175] par million.

En Île-de-France et dans les DOM, le nombre de sérologies positives est stable depuis 2011. En métropole hors IdF, il a augmenté entre 2007 et 2013 et ne s'est stabilisé qu'en 2014. Les LBM de ville étaient à l'origine de 38 % des sérologies positives en 2014. Le nombre de sérologies positives a augmenté depuis 2011 à l'hôpital (+13 %, $p < 10^{-3}$), mais non en ville.

La proportion des sérologies confirmées positives en 2014 a été estimée à 2,1/1 000 pour la France entière, avec des proportions plus élevées en Guyane (7,2), Île de France (4,0), Guadeloupe (3,4), Martinique et Mayotte (2,5). Dans les autres régions, elles varient de 0,4 à 1,9/1 000. La proportion de sérologies positives reste chaque année plus élevée pour celles réalisées dans un cadre anonyme (3,4/1 000 en 2014) que celles réalisées dans un cadre nominatif confidentiel (2,0/1 000 en 2014). LaboVIH bénéficie d'une très bonne participation des biologistes (exhaustivité de 89 % en 2014), qui permet l'estimation nationale et régionale avec précision du dépistage du VIH.

L'usage des TROD en milieu associatif et la disponibilité des autotests en pharmacie donnent l'occasion de voir des sujets ne fréquentant habituellement pas les centres de dépistage ou les centres de soins, dit l'InVS. Qui tient à souligner le rôle majeur des LBM dans le dépistage et à les remercier de la transmission de leurs données, notamment LBM de ville (40 % des sérologies positives), réalisant un diagnostic plus précoce que l'hôpital!

L'InVS souligne enfin l'intérêt d'associer le dépistage du VIH et des hépatites B et C du fait de modes de contamination communs. ■■

J.-M. M

1. Cazein F, Le Strat Y, Ramus C, Pillonel J, Lot F. Dépistage de l'infection par le VIH dans les laboratoires d'analyses médicales, 2003-2014. *Bull Epidemiol Hebd.* 2015;(40-41):769-71 (1/12/2015). www.invs.sante.fr/beh/2015/40-41/2015_40-41_4.html

Premier vaccin **anti-chikungunya** en phase 2

Un essai clinique de phase 2 soutenu par les NIH américains (National Institutes of Health) va évaluer sécurité et immunogénicité d'un premier candidat-vaccin contre le virus du chikungunya, a annoncé le National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID), l'un des instituts sanitaires des NIH.

Longtemps épargnés par cette virose, chronique en Afrique de l'est et dans l'Océan Indien (on se souvient de l'épidémie qui a frappé La Réunion), les USA ont décidé de mettre les moyens pour se défendre contre le virus, qui s'est implanté dans le sud du pays et dans la Caraïbe. « La récente émergence du virus du chikungunya dans cet hémisphère [nord] est rapidement devenue un problème de santé significatif, explique le Dr Anthony

Fauci, directeur du NIAID, et les efforts de développement de notre vaccin chikungunya constituent une partie d'un effort de recherche élargi pour prévenir, diagnostiquer, traiter et finalement maîtriser cette maladie douloureuse [marquée par des arthralgies généralisées-NDLR], qui peut frapper n'importe qui assez malchanceux pour être piqué par un moustique infecté ». Le vaccin anti-chikungunya, développé par le Centre de recherche des vaccins du NIAID, utilise des particules virus-like (VLP) au lieu d'un virus entier inactivé ou atténué. Dans un essai de phase 1 chez 25 volontaires sains en 2014, il a généré une réponse immunitaire robuste. Selon les spécialistes du NIAID, le vaccin a été bien toléré et a généré un taux élevé d'anticorps contre plusieurs génotypes viraux, encore détectables chez tous les participants à 6 mois. De plus, le taux d'anticorps était comparable à celui constaté chez des

patients convalescents d'une maladie à chikungunya.

Dans un second temps, les équipes du NIAID vont prolonger le suivi du vaccin en termes de sécurité et de réponses immunes chez 400 volontaires sains de 18 à 60 ans dans 6 centres médicaux de la Caraïbe. Les participants à cet essai de phase 2 recevront aléatoirement deux doses de vaccin en 28 jours ou deux doses-placébos. Des échantillons sanguins seront recueillis pour confirmer l'immunogénicité du nouveau vaccin.

Rappel : les cas de chikungunya ont sensiblement augmenté dans l'hémisphère nord depuis 2013, souligne le NIH, et plus de 621 000 cas suspectés et confirmés ont été rapportés dans les Amériques en 2015. ■

J.-M. M.

Source: NIH. www.nih.gov

BJI InoPlex

Test sérologique pour le diagnostic des infections ostéo-articulaires sur prothèses

- ▶▶▶ Test non invasif
- ▶▶▶ Détection de la réponse immunitaire
- ▶▶▶ Sérologie multiplex

FLYER-0071 (v1 02/2016)

BJI InoPlex est fabriqué par la société Diaxonhit (France). Lire attentivement les instructions figurant dans le manuel d'utilisation du système et sur l'étiquetage et/ou dans la notice d'utilisation du réactif.

L'anti-NACO bientôt en Europe

La Commission européenne a accordé une autorisation de mise sur le marché à Praxbind® (idarucizumab), premier agent de réversion spécifique d'un anticoagulant de la classe des NACO (nouveaux anticoagulants oraux) à recevoir l'approbation des instances européennes. L'idarucizumab est spécifique du dabigatran etexilate (Pradaxa®), tous deux développés par le Laboratoire Boehringer Ingelheim.

On sait que les laboratoires pharmaceutiques qui développent des NACO –déjà considérés outre-Atlantique comme les successeurs imparables des AVK– considèrent nécessaire de développer également des inhibiteurs spécifiques, dit agents de réversion, permettant de neutraliser rapidement l'activité anticoagulante en cas de chirurgie d'urgence, de procédures indispensables ou de saignement incontrôlable.

S'ils offrent des bénéfices importants aux patients ayant un risque de maladie thrombo-embolique, les anticoagulants oraux peuvent déclencher des situations qui, bien que rares, nécessitent une réversion rapide de leur activité biologique. Les résultats de l'étude REVERSE AD de phase 3 ont permis de montrer l'activité de Praxbind® comme outil de maîtrise de la gestion de l'anticoagulation en cas de nécessité absolue. Avec le feu vert de l'Union européenne, Boehringer Ingelheim se pose comme l'un des leaders mondiaux de cette aire thérapeutique.

« Même si nous supposons que Praxbind® sera rarement utilisé en pratique clinique, la disponibilité de cet agent de réversion spécifique peut maintenant donner aux patients et aux cliniciens une confiance supplémentaire envers Pradaxa® », dit le Pr Jörg Kreuzer, vice-président *Medicine, Therapeutic Area Cardiovascular*, Boehringer Ingelheim.

L'approbation de l'idarucizumab par la Commission européenne a été donnée deux mois après un avis positif de la Commission des produits médicaux à usage

humain de l'Agence européenne des médicaments (EMA). L'approbation de la FDA a été donnée en octobre.

Rappel: l'étude clinique REVERSE AD a fait apparaître l'effet de réversion en quelques minutes après administration IV de 5 g d'idarucizumab, la réversion étant complète et soutenue pendant un minimum de 12 h. L'étude réunissait 123 patients et 200 volontaires. L'agent de réversion de Pradaxa® est issu d'un programme de recherche démarré en 2009, un an avant le lancement du NACO aux USA.

L'idarucizumab est un fragment d'anticorps humanisé (Fab), qui se lie spécifiquement à la molécule de dabigatran, neutralisant son effet anticoagulant sans interférer avec la cascade de la coagulation physiologique. Il est prescrit à l'adulte. Le dabigatran est commercialisé depuis sept ans dans plus de 100 pays, c'est un inhibiteur direct de la thrombine (IDT). ■■

J.-M. M.

Source: Boehringer Ingelheim, communiqué de presse.



L'autotest VIH: un bon complément aux autres offres de dépistage

L'Académie nationale de pharmacie prend position à son tour sur la mise à disposition en officines, dès le 15 septembre 2015, d'autotest VIH® (société AAZ).

Les Sages font d'abord remarquer que scientifiques et organisations soutiennent que chez un sujet infecté l'autotest permet de réduire la progression du VIH tout en réduisant, voire en éliminant, le risque de transmission lors de rapports sexuels. Par ailleurs, notent-ils, la lutte contre le sida passe en priorité par le développement systématique de dépistages pour que les sujets porteurs du virus bénéficient au plus tôt d'antirétroviraux (ART) aujourd'hui plus efficaces, plus simples et bien tolérés. Sur ce point, les autotests constituent une nouvelle approche, complémentaire des offres actuelles, ce qui peut convaincre des sujets s'ignorant séropositifs et n'utilisant pas les offres de dépistage disponibles, en particulier les plus exposés, notamment les hommes ayant des rapports sexuels

non protégés avec des hommes [les HSH]. En conséquence, traiter tout sujet séropositif, dès le diagnostic, quel que soit le stade clinique, est donc désormais recommandé; en plus du bénéfice pour les patients, les ART, s'ils sont dispensés à large échelle, représentent un moyen simple et efficace pouvant largement participer à enrayer l'épidémie de VIH-sida. L'Académie de pharmacie recommande donc d'adresser des messages ciblés, afin d'augmenter le niveau du dépistage dans les groupes exposés; d'utiliser tous les tests pertinents existants; d'encourager l'usage des nouveaux autotests et de faciliter leur diffusion auprès des sujets à risque, en n'oubliant pas l'indispensable accompagnement psychologique et en mobilisant les acteurs de santé, en particulier les pharmaciens dans le cadre de leurs nouvelles missions, les médecins généralistes et les services spécialisés. Mais il faut lever des freins, notamment financiers, par une prise en charge de ces nouveaux tests mais aussi par leur

mise à disposition via l'Assurance Maladie, en médecine générale ou aux urgences, etc. On doit aussi veiller à ce que la publicité pour les autotests ne ferme pas les autres pistes de dépistage, donc informer clairement sur les nouvelles offres de dépistage mais aussi sur le double effet thérapeutique et préventif du traitement antirétroviral... ce qui n'a toujours pas été fait depuis 2008. Enfin, réclame l'Académie, il faut améliorer la coordination territoriale via les ARS et les COREVIH (Coordinations régionales de lutte contre l'infection à VIH).

L'Académie nationale de pharmacie s'associe au vœu d'ONUSIDA d'une fin de pandémie en 2030, quand 90 % des VIH-positifs connaîtront leur statut, 90 % des sujets diagnostiqués porteurs recevront un ART et 90 % des sujets traités auront une charge virale indétectable... ■■

J.-M. M.

Le premier **facteur anti-hémophilique** à effet rémanent

La **biopharma Baxalta Incorporated** (Cambridge, Massachusetts), a annoncé que la FDA a approuvé son produit **Adynovate [Antihemophilic Factor (Recombinant), PEGylated]**, un **Facteur VIII recombinant (rFVIII)**, un traitement de l'hémophilie A à demi-vie circulatoire prolongée (*extended circulating half-life*), développé à partir de son produit **Advate [Antihemophilic Factor (Recombinant)]**.

Adynovate est indiqué chez l'adolescent à partir de 12 ans et chez l'adulte. Comme le souligne son promoteur, la technologie de pegylation permet de prolonger le délai entre deux administrations à titre prophylactique du produit et permet de réduire celles-ci à 2 par semaines par rapport aux 4 habituelles, du fait de la freination de la clairance par l'organisme. Lors des essais cliniques on a pu noter une réduction de 95 % des saignements par rapport au traitement à la demande. Dans le groupe des patients recevant Adynovate, 40 % n'ont eu aucun saignement. Le développement de ce nouvel agent antihémophilique est justifié par un constat médico-social. « *Les sujets ayant une hémophilie désirent réduire leurs saignements et ne pas laisser leur hémophilie diriger leur vie*, explique Val Bias, directeur général de la *National Hemophilia Foundation* américaine, *en avoir l'option donne le pouvoir aux patients de prendre les meilleures décisions pour prendre soin d'eux-mêmes* ». Le Laboratoire Baxalta est depuis longtemps impliqué dans le traitement de l'hémophilie et dans le souhait de répondre aux besoins des patients en termes de traitements préventifs moins contraignants. Il ambitionne de devenir un leader mondial dans ce domaine en lançant quelque 20 traitements d'ici cinq ans, selon son PDG Ludwig Hantson.

Au cours de l'essai prospectif multicentrique de phase 3, sur lequel s'est basée la FDA, Adynovate a démontré son efficacité en tant que traitement prophylactique de routine aussi bien que traitement à la demande lors d'épisodes de saignements. Les patients inclus avaient de 12 à 65 ans et recevaient soit Adynovate en prophylaxie bi-hebdomadaire

LA SOLUTION POUR LE PÉRI-ANALYTIQUE DES INFECTIONS OSTÉO-ARTICULAIRES

**TRANSPORT, BROYAGE ET
CONSERVATION DES PRÉLÈVEMENTS**

À USAGE UNIQUE & PRÊT À L'EMPLOI

**TRAÇABILITÉ
du bloc jusqu'à l'analyse**

**Flacon stérile
pour disperseur
Ika® Ultra-Turrax®**

- eau qualité
biologie moléculaire
- sous double emballage
- billes en acier



Disperseur
Ika® Ultra-Turrax®
Tube Drive Control





CEB
Fabricant
du Groupe CML-ID



CML
Pour les laboratoires publics :
Tel. : 01 64 45 42 42
Email : serviceclient@cml.fr



elvetec
Pour les laboratoires privés :
Tel. : 0 970 808 921
Email : serviceclient@elvetec.fr

Groupe  **CML-ID**
International Development
Partners Chain

www.cmlid.fr

(40-50 UI/kg, n = 120) ou Adynovate en traitement à la demande (10-60 UI/kg, n = 17).

On a constaté dans le groupe prophylaxie une réduction de 95 % des saignements annuels comparativement au groupe traitement à la demande (taux de saignement annuel médian [*median annual bleed rate /ABR*] : 1,9 vs. 41,5). Au cours de l'étude, 38 % des sujets du groupe prophylaxie n'ont eu aucun saignement, et 57 % n'ont eu aucune hémorragie intra-articulaire au cours des 6 mois de l'essai. Aucun des patients de l'essai n'a développé d'inhibiteurs contre Adynovate.

Des études complémentaires préciseront la place d'Adynovate chez l'hémophile sévère subissant une chirurgie et chez l'enfant hémophile sévère de moins de 12 ans. Des dossiers du produit vont être présentés au Japon et à l'Union européenne. ■

J.-M. M.

Source : Baxalta Incorporated www.baxalta.com



BRÈVES

Nouvel avertissement de la FDA sur les anti-SGLT2



La FDA a lancé un avertissement aux prescripteurs et aux diabétiques sur les inhibiteurs du SGLT2, nouvelle classe d'antidiabétiques, plus précisément concernant deux spécialités du Laboratoire Janssen : Invokana® (canagliflozine) et Invokamet® (canagliflozine + metformine), du fait du risque de fragilisation osseuse et de fracture. En fait la FDA a entrepris d'évaluer les effets indésirables osseux de tous les anti-SGLT2 disponibles : Farxiga® (dapagliflozine, AstraZeneca), Xigduo®XR (dapagliflozine + metformine, AstraZeneca), Jardiance (empagliflozine, Boehringer Ingelheim), Glyxambi (empagliflozine + linagliptine, Boehringer Ingelheim), Synjardy® (empagliflozine + metformine, Boehringer Ingelheim). En diffusant cette information aux professionnels de santé et aux patients, la FDA comme d'habitude recommande à ces derniers de ne pas interrompre le traitement sans consulter leur médecin. En mai dernier, la FDA avait averti prescripteurs et patients du risque d'acidocétose associé à certains anti-SGLT2, ou inhibiteurs du sodium-glucose cotransporteur-2, freinant la réabsorption du glucose par le rein.

Traitement hors norme de la maladie cœliaque



Le *Medical Research Council* australien a attribué 860 000 dollars (australiens) à 2 scientifiques de l'Université James Cook, John Croese, gastro-entérologue, et Paul Giacomini, pour l'étude d'un traitement expérimental de la maladie cœliaque, impliquant un ver parasite, l'ankylostome (*hookworm*). Dans une étude pilote, 20 patients cœliaques ont été infectés avec des larves d'ankylostome (*Necator americanus*) puis ont reçu des quantités croissantes de gluten. À la fin de l'étude ils pouvaient consommer du gluten en quantité grâce à ce traitement de leur intolérance au gluten, le grêle apparaissant plus tolérant à divers aliments, selon les auteurs. La subvention du MRC permettra d'organiser une étude de 40 patients auxquels seront injectées des larves de *hookworms* et proposés des aliments riches en gluten : les larves sécrèteraient des protéines anti-inflammatoires expliquant la tolérance au gluten. Prochaine étape : isoler ces protéines en vue d'un traitement plus classique, mais en attendant on recourra aux larves de *hookworm*.

Source : *Healio Gastroenterology*.

Exposition aux ondes radioélectriques : les résultats de 3 000 mesures

L'Agence nationale des fréquences (ANFR) vient de publier le résultat de 2 955 mesures réalisées en 2014 dans le cadre du dispositif national de surveillance de l'exposition du public aux ondes/champs électromagnétiques.

Les 2 955 mesures ont été réalisées sur l'ensemble du territoire. Tous les niveaux d'exposition mesurés sont inférieurs aux valeurs limites réglementaires. Le décret n° 2002-775 du 3 mai 2002 définit des valeurs limites d'exposition du public aux champs électromagnétiques émis par les équipements utilisés dans les réseaux de télécommunication ou par les installations radioélectriques. Les valeurs réglementaires sont comprises entre 28 et 87 volts par mètre. Les valeurs mesurées par l'ANFR en 2014 s'établissent à un niveau médian de 0,38 volt par mètre.

Dans seulement 18 cas sur 2 955, un niveau supérieur à 6 volts par mètre a été mesuré. Les niveaux sont légèrement plus élevés en zones urbaines qu'en zones rurales, ils sont aussi légèrement supérieurs en extérieur qu'en intérieur. Les principales sources d'exposition sont la téléphonie mobile, les services HF (ondes courtes, moyennes et longues), le Wifi et les services de radiodiffusion FM. Dans 57 % des cas, c'est la téléphonie mobile qui est le contributeur principal.

Dans le cadre de ses missions, l'ANFR veille au respect des valeurs limites d'exposition. Depuis la loi du 3 août 2009

de programmation relative à la mise en œuvre du *Grenelle de l'Environnement*, toute personne, physique ou morale, peut demander à faire mesurer l'exposition aux ondes électromagnétiques dans des locaux d'habitation ou dans des lieux accessibles au public.

Le rapport « Étude de l'exposition du public aux ondes radioélectriques, Analyse de 3 000 résultats de mesures réalisées entre le 1^{er} janvier et le 31 décembre 2014 » comporte 18 pages. Il a été rendu public le 24 décembre et est accessible sur le site de l'ANFR¹.

Un formulaire Cerfa n° 15003*01 permet à toute personne qui le souhaite de demander une mesure (gratuite) de l'exposition aux ondes électromagnétiques, soit dans les locaux d'habitation, soit dans des lieux accessibles au public. Il n'est pas applicable aux lignes électriques, telles les lignes à haute tension.

Le formulaire doit être impérativement signé par un organisme habilité (collectivité territoriale, association agréée de protection de l'environnement, fédération d'associations familiales...), puis adressé par le demandeur à l'Agence nationale des fréquences, qui instruit la demande et délègue in situ un laboratoire de mesure accrédité indépendant. La liste des organismes habilités figure dans la notice explicative. Le résultat des mesures est rendu public par l'Agence sur le site www.cartoradio.fr. ■■

J.-M. M.

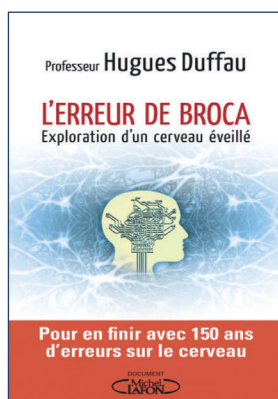
1. www.anfr.fr/fileadmin/CP/2015-12-23_Analyse_mesures_2014_vf.pdf



LIVRES

L'erreur de Broca

Imaginez qu'on puisse vous opérer d'une tumeur au cerveau sans vous endormir, et qu'en affinant le geste médical on sauve non seulement votre vie mais toutes les capacités de cet organe... Imaginez qu'on puisse aller jusqu'à amputer votre cerveau de la zone du langage, la fameuse « aire de Broca », sans vous priver pour autant de la parole... Science-fiction ? En aucun cas. C'est ce qu'a prouvé l'auteur de ce livre, neurochirurgien éminent du CHU de Montpellier, qui, à ce jour, a opéré plus de six cents tumeurs cérébrales, sans séquelles. Décrit à ses débuts, il est aujourd'hui mondialement reconnu et consulté pour sa technique spectaculaire. Après une lutte acharnée pour rompre avec les dogmes encore



en vigueur, il a révolutionné la neurologie et mis fin à une croyance erronée vieille de cent cinquante ans. En effet, le cerveau n'est pas divisé en zones

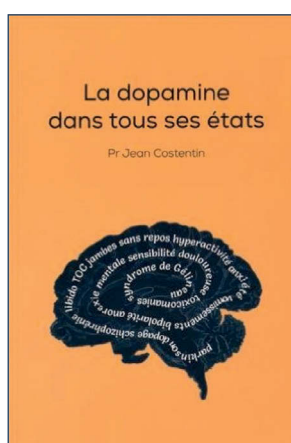
indépendantes comme on le croyait tout d'abord (d'où allusion à Broca), mais organisé en réseaux interactifs et doté d'une étonnante plasticité (neuroplasticité). Il est donc capable de s'adapter ou de se remodeler en permanence, permettant aux patients une récupération et une qualité de vie qu'on imaginait jusqu'ici impossibles. Conclusion

de l'éditeur : un immense message d'espoir. ■■

Pr Hugues Duffau. 288 p.
Éditions Michel Lafon. www.michel-lafon.fr

La dopamine dans tous ses états

Les dérèglements par excès ou par défaut de la libération de la dopamine sont impliqués dans de nombreuses et souvent graves affections neurologiques ou psychiatriques : la maladie de Parkinson, le syndrome des jambes sans repos, certains troubles de la veille ou du sommeil, des états dépressifs, toutes les toxicomanies et autres addictions, la schizophrénie, l'hyperactivité de l'enfant avec déficit de l'attention, les troubles des conduites alimentaires, certains troubles endocriniens, des troubles de la régulation de la température corporelle... L'auteur explicite les mécanismes dopaminergiques qui les sous-tendent et permet au lecteur de comprendre le recours thérapeutique à des médicaments manipulant la transmission dopaminergique. Cet enchaînement, de la clinique à la pharmacologie, *via* la physiopatholo-



gie, rend compréhensible cet important volet de la neurobiologie, qui couvre nombre d'affections. L'auteur, professeur émérite de la Faculté de médecine et pharmacie de Rouen, docteur en médecine et pharmacie, docteur ès-sciences, a dirigé une unité de neuro-psycho-pharmacologie et l'Unité de neurobiologie clinique du CHU de Rouen. Il préside le Centre national de prévention, d'études et de recherches sur les toxicomanies. Il est membre des académies nationales de médecine et de pharmacie. auteur de plus de 300 publi-

cations scientifiques dans des revues internationales, en relation pour nombre d'entre elles avec les thèmes de ce livre, il a mis son sens pédagogique au service de l'information du public sur ce sujet important de la dopamine cérébrale. ■■

Pr Jean Costentin. 180 p. Éditions Docis.
www.editions-docis.com

AGENDA
mars-juin 2016

JIB 2016

22-24 juin 2016

Paris/Porte de Versailles

www.jib-sdbio.fr

SNBH

22-24 juin 2016

Paris/Porte de Versailles

www.snbh.asso.fr – www.acnbh.org

Conférence internationale pré-HTA, HTA, syndrome métabolique

3-6 mars 2016

Venise

www.prehypertension.org

Colloque Les femmes et le risque cardiovasculaire

10 mars 2016

Paris, ministère de la Santé

(14 avenue Duquesne, 75007)

colloque_cardio_femmes@gensdevenements.com

pre-programme_journee_cardio_femmes.pdf

Génétique en médecine légale (genetics in forensics)

14-15 mars 2016

Londres

www.forensicgenetics-congress.com

Journées francophones d'hépatogastro-entérologie et oncologie digestive

17-20 mars 2016

Paris

www.jfhod.fr

Marijuana & cannabinoïdes, a neuroscience summit

NIDA: National Institute of Drug Abuse

22-23 mars 2016

NIH Campus, Bethesda (Maryland)

www.nida.nih.gov

Forum Labo & Biotech

30-31 mars 2016

Lyon

www.forumlabo.com

Assises de sexologie et de santé sexuelle

7-10 avril 2016

Reims

www.assises-sexologie.com



Un copié-collé génomique pour traiter la maladie de Duchenne

La suppression par des *ciseaux moléculaires* de l'anomalie génétique bloquant l'expression de la dystrophine permet de restaurer sa production en quantité suffisante pour améliorer la fonction musculaire de souris-modèles de myopathie de Duchenne.

L'année 2016 commence bien ! La revue *Science* vient de publier dans un même numéro les travaux de 3 équipes américaines indépendantes dont les résultats débouchent sur un même espoir, celui de traiter une dystrophie musculaire actuellement incurable, la myopathie de Duchenne.

Cette maladie génétique liée au chromosome X est due à des mutations du gène *DMD* (*Duchenne Muscular Dystrophy*), empêchant la production de dystrophine, protéine nécessaire au maintien de la structure des fibres musculaires. Son absence, totale ou partielle, provoque une dégénérescence progressive de l'ensemble des muscles de l'organisme, conduisant au décès précoce des patients.

Cette avancée scientifique importante est due à l'utilisation de la technique des *ciseaux moléculaires* CRISPR-Cas9, désignée « percée scientifique de l'année » par *Science*. Grâce à cet outil de thérapie génique, il est possible de faire des *copiés-collés* au niveau de l'ADN et modifier de façon précise/ciblée, rapide, économique et efficace, un gène malade en le remplaçant ou en le corrigeant, *in vitro* en culture, ou *in vivo* sur les plantes ou l'animal.

Les articles de *Science* mettent en évidence, sur un modèle murin de dystrophie musculaire comparable à la myopathie de Duchenne, qu'une modification du gène *DMD* par la CRISPR-Cas9 permet de produire de la dystrophine, certes sous forme tronquée et en faible quantité, mais fonctionnelle et suffisante pour améliorer significativement le fonctionnement musculaire des souris génétiquement modifiées. Le gène *DMD* étant trop long pour

être remplacé en totalité, les différents auteurs ont utilisé des adénovirus pour acheminer les ciseaux moléculaires et leur guide vers la séquence-cible au niveau du site muté et supprimer la séquence du gène qui bloque sa transcription en dystrophine. Si le résultat final, en termes d'efficacité, est similaire, quelle est donc la spécificité des travaux de ces équipes ?

Cette avancée scientifique importante devra être testée sur des mammifères plus proches de l'Homme que la souris.

L'équipe de C. E. Nelson (Duke University, Caroline du Nord) a délété l'exon 23 du gène *DMD*, ce qui a abouti à la production d'une faible quantité de protéine (environ 8 % du taux normal) par les cellules musculaires des souris traitées. Cette protéine était fonctionnelle et permettait une amélioration significative du fonctionnement musculaire dans les semaines suivant le traitement. De plus, l'efficacité de la technique était quasi identique, que les souris soient traitées juste après la naissance ou à l'âge adulte et que l'injection de l'adénovirus soit systémique ou dans le muscle.

Après avoir montré en 2014 que l'on pouvait corriger la mutation sur une lignée germinale de souris, l'équipe de Long et Olson (Université du Texas) montre que cette correction est également possible lorsque l'adénovirus est introduit sur la souris adulte, quelle que soit la voie d'injection : intramusculaire, intrapéritonéale ou intraveineuse. Ici encore, la quantité de dystrophine produite est faible mais suffisante à améliorer la contraction musculaire des souris injectées.

Enfin l'équipe d'Amy J. Wagers (*Massachusetts Institute of Technology*, Harvard)

met en évidence que cette réparation moléculaire peut également permettre la production de dystrophine par les cellules souches musculaires.

Ainsi, tous ces travaux arrivent à la conclusion que l'on peut faire synthétiser par le gène *DMD* réparé grâce aux *ciseaux moléculaires* CRISPR/Cas9 une quantité de dystrophine modeste mais suffisante pour soigner ces souris génétiquement modifiées. Bien que les techniques du saut d'exon, des nucléases à doigt de zinc et des TALENs sont également d'excellents outils de chirurgie moléculaire, la technique CRISPR présente l'avantage d'être beaucoup plus simple, rapide et... économique. Ces études menées sur la souris sont extrêmement prometteuses mais, comme toujours, de nombreux obstacles restent à franchir avant de pouvoir appliquer cette technologie à l'Homme.

Parmi ceux-ci, il faudra tester l'innocuité et l'efficacité des adénovirus, étudier la réponse immunitaire qu'ils induisent et la production éventuelle d'anticorps contre le vecteur viral, s'assurer que la CRISPR/Cas9 ne modifie pas d'autres sites du génome, déterminer les meilleures voies d'injection...

Par ailleurs, les premiers essais précliniques devront se faire sur des mammifères plus proches de l'Homme que la souris car il n'est pas rare de voir des thérapies être très efficaces sur des modèles murins et n'avoir aucune action chez l'Homme ! Quoi qu'il en soit, il est vraisemblable que, dans un avenir plus ou moins proche, cette nouvelle technique viendra compléter l'arsenal thérapeutique actuellement utilisé pour traiter les myopathies. ■■

Nelson CE, et coll. *Science*. 2015 Dec 31. doi: 10.1126/science.aad5143. [Epub ahead of print] Long C, et coll. *Science*. 2015 Dec 31. doi: 10.1126/science.aad5725. [Epub ahead of print] Tabebordbar M, et coll. *Science*. 2015 Dec 31. doi: 10.1126/science.aad5177. [Epub ahead of print]

Autisme et cerveau: le GABA en cause

En mettant en évidence une défaillance de la neurotransmission GABA, un test visuel permettrait de détecter précocement des manifestations comportementales liées à l'autisme et aider à sa prise en charge plus précoce.

Le GABA, acide gamma-aminobutyrique, est un neurotransmetteur inhibiteur, essentiel au fonctionnement cérébral. De façon intéressante, il diminue l'excitabilité des neurones chez l'adolescent et l'adulte, mais les excite pendant la période du développement du cerveau. Des résultats publiés en 2014 par une équipe française (Tyzio R. et coll., *Science* 2014) avaient montré l'importance de la concentration en chlore au niveau des neurones qui, en restant trop élevée chez les enfants autistes, réduirait l'effet inhibiteur que le GABA devrait exercer sur les neurones après la naissance.

Cette hypothèse avait été émise grâce à l'étude de deux modèles animaux avec toutes les limitations que cela implique. L'un des modèles était de nature génétique, le syndrome du X fragile, la mutation génétique la plus fréquente liée à l'autisme, l'autre était induit par l'injection de valproate de sodium à des rates gestantes.

Les résultats que Caroline Robertson et coll. viennent de publier en décembre 2015 dans *Current Biology* mettent en évidence pour la première fois chez l'Homme le lien direct entre la réduction de la signalisation GABA et une symptomatologie sensorielle visuelle du processus autistique. Les auteurs ont tout d'abord montré, dans une cohorte de 41 sujets adolescents et adultes atteints de troubles autistiques

ou non et avec une vision normale (avec ou sans correction), que les sujets souffrant d'autisme montraient un ralentissement aux tests lors du phénomène appelé «rivalité binoculaire». Cette rivalité binoculaire résulte de la stimulation simultanée des deux yeux par des objets suffisamment différents

Première mise en évidence chez l'Homme, d'un lien direct entre la neurotransmission du GABA et l'autisme grâce à un test visuel

pour que la fusion binoculaire normale ne soit pas possible; le cerveau inhibe alors les signaux neuronaux de l'une des images pour permettre à l'autre d'être consciemment visible.

Ainsi, contrairement aux sujets non atteints ($n = 21$), les sujets autistes ($n = 20$) mettaient significativement plus de temps à supprimer de leur conscience les images visuelles, suggérant un déséquilibre activation/inhibition au niveau du cortex visuel. Les auteurs ont ensuite mesuré, grâce à la spectrométrie par résonance magnétique du proton, permettant de fournir des informations sur le métabolisme cellulaire, les taux de GABA et de glutamate au niveau du cortex visuel au cours du test de rivalité binoculaire. Leurs résultats ont fait apparaître que bien que les taux de GABA et de glutamate ne semblaient pas modifiés entre les deux groupes, il existait un lien

entre la dynamique de rivalité binoculaire et le niveau de GABA chez les sujets- contrôles alors que celui-ci était quasiment absent chez les patients autistes, suggérant une altération de la signalisation GABA. Bien que dans cette étude, les anomalies semblent spécifiques de GABA puisqu'elles ne sont pas retrouvées pour le glutamate, un neurotransmetteur excitateur, ni pour d'autres métabolites tels que TNA, TCho, TCr, les auteurs n'excluent cependant pas que d'autres neurotransmetteurs puissent jouer un rôle important dans de telles manifestations.

L'importance des résultats de Robertson et coll. réside donc dans le fait qu'ils corroborent, chez l'Homme, ceux démontrés dans les modèles murins quant au rôle d'une défaillance de l'inhibition cérébrale liée à la neurotransmission GABA dans la pathogenèse de l'autisme et troubles apparentés (troubles du spectre autistique/TSA). Reste maintenant à comprendre le lien entre de telles anomalies et les mutations fréquemment observées chez les patients, et à intégrer cette compréhension dans la pathogenèse complexe de la maladie. Enfin, bien que des études complémentaires soient également nécessaires pour comprendre si et comment les symptômes visuels résultent de la défaillance de l'activité de GABA dans le cerveau autistique, leur mise en évidence par ce test, ou un test similaire, pourrait permettre de détecter plus précocement la maladie chez le jeune patient et donc réduire le délai de prise en charge, essentiel sur le plan thérapeutique et pronostique. ■■

Robertson CE, et coll. *Curr Biol.* 2015 Dec 16. pii: S0960-9822(15)01413-X. doi: 10.1016/j.cub.2015.11.019. [Epub ahead of print]

VIH: la PrEP au JO

Un arrêté paru au Journal Officiel¹ précise les conditions du «traitement préventif» de l'infection à VIH lors de rapports sexuels par le recours à la spécialité pharmaceutique Truvada® (ténofovir/emtricitabine), connu sous l'appellation PrEP (*pre-exposure prophylaxis*). Cette association de deux antirétroviraux (ART) bénéficie d'une recommandation d'utilisation temporaire (RTU) pour 3 ans, avec la même prise en charge que celle prévue précédemment par l'AMM du produit en usage thérapeutique. Pour

chaque patient, le médecin-conseil et le médecin traitant évalueront conjointement, précise l'arrêté, l'opportunité médicale du maintien de la PrEP, ce au terme d'un délai d'un mois à compter de la prescription initiale. L'entreprise exploitant la spécialité (il s'agit ici du Laboratoire Gilead Sciences) «est tenue de mettre en place le suivi des patients» selon les modalités du protocole prévu et figurant à l'article cité du Code de la santé publique. L'indication de la RTU précise: Prophylaxie préexposition au VIH

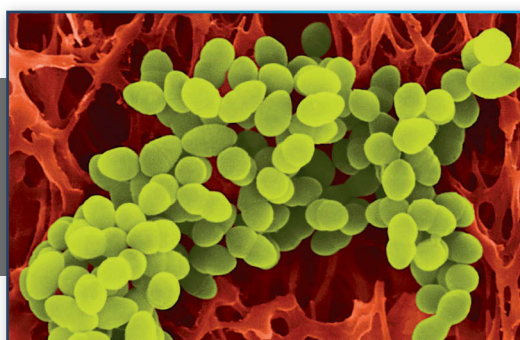
chez les personnes âgées de 18 ans et plus à haut risque d'acquisition du VIH par voie sexuelle en tant qu'outil additionnel d'une stratégie de prévention diversifiée. ■■

1. Arrêté du 28 décembre 2015 relatif à la prise en charge d'une spécialité pharmaceutique bénéficiant d'une recommandation temporaire d'utilisation et pris en application de l'article L. 162-17-2-1 du Code de la Sécurité sociale, JO du 31 décembre 2015.

Source: www.legifrance.gouv.fr.

Infections ostéo-articulaires

Jean-Philippe Lavigne^{a,b}



AVANT-PROPOS

Les infections ostéo-articulaires (IOA) sont des pathologies graves susceptibles d'entraîner un handicap très lourd et parfois de mettre en jeu le pronostic vital. La prise en charge médico-chirurgicale de ces infections est par nature difficile. Elle requiert une coordination complexe entre différentes spécialités médicales et chirurgicales ainsi qu'un plateau technique adapté (blocs opératoires, laboratoires spécialisés, service d'imagerie...). Elle est maintenant organisée, coordonnée au sein de Centre de Référence des IOA complexes (CRIOAc). Dans ce numéro spécial, sont présentées les connaissances actuelles sur cette pathologie si difficile à prendre en charge.

Guillaume Aubin et Stéphane Corvec présentent tout d'abord les aspects généraux des IOA. Ces infections ne sont pas du tout exceptionnelles. Elles sont même de plus en plus fréquentes. L'incidence des arthrites septiques est estimée dans les pays développés à 4 à 10 pour 100 000 habitants.

Les ostéomyélites, plus rares chez l'adulte, apparaissent principalement chez l'enfant (10 pour 100 000). L'incidence des spondylodiscites, ostéomyélites du rachis, a été estimée à 2,4 pour 100 000 habitants en France. De nombreuses portes d'entrée sont connues. L'infection peut correspondre soit à une dissémination par voie sanguine à partir d'un foyer septique à distance, soit par contiguïté d'un foyer localisé, soit à une inoculation directe accidentelle ou iatrogène.

Les *Staphylococcus* spp. sont majoritairement impliqués dans ces IOA (37 à 68 % des cas d'arthrites septiques ou des infections osseuses). Frédéric Laurent et son équipe du Centre National de Référence des staphylocoques à Lyon présentent une synthèse des récentes avancées dans la compréhension physiopathologique des IOA staphylococciques. Ils expliquent : (1) comment certaines interactions entre *S. aureus*, le système immunitaire et les cellules de l'os déséquilibrent l'homéostasie du tissu osseux et aboutissent à une perte osseuse ; (2) les mécanismes d'adaptation des staphylocoques à l'infection chronique comme la vie en biofilm, la survie intracellulaire et le ralentissement métabolique, ainsi que leurs conséquences diagnostiques et thérapeutiques ; et (3) les particularités des IOA aiguës et destructrices liées à la synthèse de la leucocidine de Panton-Valentine, par certains isolats de *S. aureus*. La description et l'impact de l'invasion et de la persistance intracellulaire de *S. aureus* dans les cellules osseuses comme les ostéoblastes ont

a INSERM U1047,

Université de Montpellier, UFR de Médecine - 30908 Nîmes

b Service de Microbiologie,

CHU Carémieu - 30029 Nîmes

*Correspondance :

jean.philippe.lavigne@chu-nimes.fr

bouleversé la physiopathologie de ces infections. Les staphylocoques, bactéries décrites durant des décennies comme un modèle d'infection extracellulaire ont « une vie intracellulaire » ! Cette sanctuarisation intracellulaire fournit à la bactérie une niche de protection, à l'abri du système immunitaire et de la plupart des antibiotiques. L'organisation en biofilm et le ralentissement métabolique (*small colony variant*) permettent également de diminuer l'efficacité des antibiotiques. L'intervention chirurgicale est donc bien inéluctable...

Les bacilles à Gram négatif sont également fréquemment impliqués. Lise Crémet et Stéphane Corvec nous en présentent les principales caractéristiques. Chez le jeune enfant de moins de 4 ans, ils nous rappellent l'importance de la recherche de *Kingella kingae* qui est devenu la première cause d'arthrites septiques et d'ostéomyélites, devant *S. aureus*. Chez l'adulte, les bacilles à Gram négatif sont impliqués dans 10 à 23 % des IOA sur matériel. Ce chiffre ne devrait pas diminuer ces prochaines années, compte tenu du vieillissement de la population et de l'augmentation du nombre d'arthroplasties chez les personnes âgées. *Escherichia coli* est un des pathogènes principalement détectés dans ces situations. Bien connu pour son implication dans les infections urinaires, il peut également être à l'origine d'IOA. Fait très intéressant, les souches isolées dans ce contexte présentent un profil de virulence complètement comparable aux souches à l'origine d'infections urinaires. Urine, os, même combat ? Les recherches futures nous le préciseront.

Le diagnostic microbiologique des IOA demeure fort complexe et nécessite obligatoirement une collaboration forte entre orthopédistes, infectiologues et biologistes. Céline Dupieux et Frédéric Laurent nous décrivent les éléments essentiels à mettre en place pour assurer un diagnostic de qualité. Ainsi, il est obligatoire de réaliser des prélèvements dans les conditions les plus strictes d'asepsie au bloc chirurgical avec un acheminement rapide au laboratoire de bactériologie. La multiplication des prélèvements facilite l'interprétation des résultats. Une fois au laboratoire, ces prélèvements doivent être traités dans des conditions d'asepsie pour éviter toute contamination. L'incubation des milieux gélosés doit être prolongée (minimum 14 jours) pour permettre la culture de toutes les bactéries. L'identification et les antibiogrammes sur tous les types de colonies bactériennes sont d'ailleurs indispensables. La biologie moléculaire peut être utile surtout en cas de forte suspicion d'infection alors que les cultures sont négatives ou systématiquement en cas d'arthrite septique de l'enfant de moins de 4 ans. Dans ce numéro, notre équipe a également décrit

la prise en charge diagnostique des ostéites des pieds chez les patients diabétiques. Complications fréquentes de cette pathologie, leur diagnostic est particulièrement difficile et nécessite une collaboration pluridisciplinaire spécialisée. La biopsie osseuse est le prélèvement indispensable à réaliser pour poser le diagnostic.

Enfin, Tristan Ferry et son équipe du Centre de Référence (CRIOAc) de Lyon présentent les grandes lignes du traitement des IOA. Les antibiotiques ont la propriété de diffuser faiblement dans l'os et les articulations ce qui va diminuer leur efficacité. De plus, la présence de matériel complique encore le traitement car les bactéries s'organisent en biofilm, ce qui constitue un obstacle à la diffusion des antibiotiques. Enfin nous avons vu que leur adaptation métabolique et leur vie intracellulaire participent également à la réduction de l'action des antibiotiques. Ainsi, le traitement de ces infections va nécessiter, de façon quasi systématique, d'associer au traitement antibiotique un traitement chirurgical pour éliminer l'inoculum bactérien. Souvent il sera également nécessaire de changer ou de retirer tout ou partie du matériel (prothèse, clou, plaque, vis...). Ce numéro spécial vous permettra donc de mieux comprendre la physiopathologie de ces infections et de voir les nouveautés en terme de prise en charge. Les IOA sont très complexes et beaucoup de chemins restent encore à parcourir... Bonne lecture.

Sommaire thématique

- Épidémiologie et physiopathologie générale des infections ostéo-articulaires p. 25
- Infections ostéo-articulaires à staphylocoques p. 33
- Infections ostéo-articulaires à bacilles à Gram négatif p. 41
- Diagnostic des infections ostéo-articulaires p. 47
- Ostéite du pied diabétique p. 55
- Traitement des infections ostéo-articulaires p. 61
- QCM p. 68

La coordination de ce dossier a été assurée par le Pr Jean-Philippe Lavigne, Chef de Service, Service de Microbiologie, CHU Carémieu – INSERM U1047, Centre National de Référence des Brucella (L.A.), UFR de Médecine, Université de Montpellier.

Épidémiologie et physiopathologie générale des infections ostéo-articulaires

Guillaume Ghislain Aubin^{a,b}, Stéphane Corvec^{a,b,*}

RÉSUMÉ

Les infections ostéo-articulaires (IOA), majoritairement causées par *Staphylococcus* spp., sont grevées d'un risque élevé d'échec thérapeutique et de morbidité à long terme. Ce risque a été associé à une importante destruction osseuse et une évolution fréquente vers la chronicité ou la récurrence. Dans ce travail, nous proposons une synthèse des récentes avancées dans la compréhension physiopathologique des IOA staphylococciques.

Épidémiologie – infections ostéoarticulaires – physiopathologie – *Staphylococcus aureus*.

1. Introduction

Les infections ostéo-articulaires (IOA), incluant les arthrites septiques, les ostéomyélites et les spondylodiscites, sont une cause significative de morbidité et parfois, de mortalité. Ces infections peuvent apparaître sur articulation native ou être associées à du matériel. La plupart des articles traitant de l'épidémiologie des IOA concerne les IOA post-opératoires ou sur matériel. Ces infections sont de plus en plus fréquentes, notamment en raison de l'augmentation du nombre d'arthroplasties [1].

L'incidence des arthrites septiques est estimée dans les pays développés à 4-10 pour 100 000 habitants. Les ostéomyélites, plus rares chez l'adulte, apparaissent principalement chez l'enfant (10 pour 100 000). L'incidence des spondylodiscites, ostéomyélites du rachis, a été estimée à 2,4 pour 100 000 habitants en France [2].

La prise en charge des IOA peut être très coûteuse, notamment en raison des hospitalisations prolongées qu'elles génèrent, des traitements complexes mis en œuvre, et des nouvelles hospitalisations fréquentes. L'apparition d'une IOA après une arthroplastie double la durée moyenne de séjour des patients comparée à une procédure non septique. Le poids de la prise en charge de ces infections varie significativement en fonction des pays, principalement du fait de systèmes de santé différents [2].

a Institut de Biologie des Hôpitaux de Nantes
Service de Bactériologie-Hygiène hospitalière,
CHU de Nantes

Institut de Biologie des Hôpitaux de Nantes
9 quai Moncousu - 44093 Nantes Cedex 01

b Université de Nantes, EA3826 Thérapeutiques cliniques
et expérimentales des infections,
Faculté de Médecine de Nantes

*Correspondance :

stephane.corvec@chu-nantes.fr

SUMMARY

Staphylococcal bone and joint infections

Bone and joint infections (BJIs) are mainly caused by staphylococci. High rates of treatment failure and long-term functional sequelae in BJI patients have been associated to bone loss and frequent relapses or chronicization of the infection. In this review, a recent findings that helped improve our understanding of BJI pathophysiology is presented.

Epidemiology – bone and joint infections – physiopathology – *Staphylococcus aureus*.

2. Physiopathologie des infections ostéo-articulaires bactériennes

Quel que soit son mode d'expression, une IOA doit toujours être considérée comme une infection grave pouvant engager à un stade précoce le pronostic vital, et à un stade tardif, le pronostic fonctionnel, avec un passage possible à la chronicité.

2.1. Portes d'entrée

Les micro-organismes incriminés peuvent gagner le site de l'infection par trois voies principales :

- la dissémination par voie sanguine à partir d'un foyer septique à distance, au cours d'une bactériémie. C'est le mode de contamination majoritairement rencontré notamment lors d'arthrite [3]. La cause de la dissémination hématogène n'est pas toujours évidente (geste chirurgical sur le foyer septique, endoscopie urologique ou gynécologique, ou autres localisations du foyer septique : dentaire, sinusien, rhinopharyngé, cutané, urinaire, endocardique...),
- l'inoculation directe du microorganisme par effraction constitue la deuxième voie d'infection. L'effraction peut être accidentelle ou iatrogène, médicale ou chirurgicale, à la suite d'une plaie pénétrante, d'une ponction articulaire, d'une infiltration de corticostéroïdes, d'une arthroscopie, ou encore d'une arthrographie,
- enfin, la contamination par contiguïté peut se faire à partir d'un foyer septique voisin de l'os ou de l'articulation : dermohypodermite bactérienne, abcès des parties molles, ostéomyélite, ou bursite septique [3].

2.2. Physiopathologie

L'os sain est un tissu bien vascularisé, hormis la région métaphysaire qui est le lieu d'un ralentissement circulatoire, particulièrement chez l'adolescent [4].

En revanche, en cas d'infection et indépendamment du mode de pénétration, les bactéries déclenchent une réaction

article reçu le 12 août, accepté le 10 septembre 2015

© 2016 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

inflammatoire suppurée qui se développe soit dans la région sous-périostée (formant un abcès sous-périosté précoce qui évolue vers les parties molles), soit dans la cavité médullaire. Ces réactions s'accompagnent rapidement d'une hyperhémie diffuse (artériolaire, capillaire et veinulaire) responsable d'une augmentation du débit sanguin et de la perméabilité capillaire. Il s'ensuit une transsudation plasmatique responsable d'un œdème et d'une hyperpression locale [5]. Dans la cavité médullaire, ces réactions entraînent une compression des capillaires et des sinusoides, responsable de thromboses veineuses et artérielles. L'ischémie provoque des zones d'infarctissement de la moelle grasseuse et hématopoïétique qui évolueront secondairement vers la formation d'abcès bordés par une réaction d'ostéoporose. Les thrombi septiques peuvent être à l'origine de métastases, soit à distance, soit dans des territoires osseux de voisinage expliquant la possibilité de pandiaphysite.

Plus tardivement, des foyers de nécrose osseuse peuvent se constituer. Les petits foyers, toujours nombreux, peuvent être résorbés par l'action des ostéoclastes. Si le fragment d'os nécrosé est plus volumineux, la résorption est impossible et il se forme un séquestre osseux septique, première étape du passage à la chronicité. Ces réactions se produisent très rapidement. L'expérimentation animale montre qu'en 72 h une ostéomyélite aiguë staphylococcique peut, en l'absence d'un traitement antibiotique efficace, avoir constitué des séquestres. Au contact des séquestres, le périoste réagit en produisant un os neuf. Cette réaction de néo-ostéogénèse peut atteindre une épaisseur considérable. Dans les ostéomyélites chroniques, cet os néoformé est creusé de multiples cavités comportant de petits séquestres dans lesquels des bactéries vivantes peuvent persister indéfiniment. En parallèle, l'accumulation de pus dans la cavité articulaire va entraîner une distension capsulaire qui interfère avec la nutrition du cartilage, induisant l'apoptose de nombreux chondrocytes. Ce processus enzymatique de destruction chondrocytaire persiste longtemps, même après stérilisation de l'articulation par un traitement antibiotique. Enfin, à partir de ces foyers abcédés, des trajets fistuleux vont se former à travers les parties molles pour tenter d'assurer un drainage qui reste toujours très insuffisant [6].

Chez le nourrisson, avant 12-18 mois, l'existence d'anastomoses vasculaires entre métaphyse et épiphyse peut expliquer l'atteinte articulaire précoce par contiguïté, ce réseau dit interphysaire étant essentiellement décrit au niveau des grosses articulations : hanche, genou, épaule et coude [7]. Chez l'enfant et l'adolescent, ces anastomoses disparaissent, et le cartilage de croissance constitue une barrière naturelle à l'atteinte articulaire en cas d'ostéite juxtamétaphysaire, sauf au niveau de la hanche [8].

2.2.1. Sites de l'infection

Tous les os peuvent être atteints, principalement les os longs, mais les IOA surviennent majoritairement au niveau des membres inférieurs, avec en premier lieu le genou puis la hanche. Au niveau de l'articulation, c'est la chondro-épiphyse, structure anatomique pluri-tissulaire située à chacune des deux extrémités d'un os long, qui se trouve au cœur de l'infection (**arthrite septique**). Son rôle est essentiel non seulement car elle est porteuse du potentiel de croissance en longueur de l'os, mais son développement

détermine également le volume et la forme de la surface articulaire. Il est donc aisé de comprendre la gravité des séquelles fonctionnelles notamment en termes de déséquilibre de croissance que peuvent engendrer les infections articulaires. L'**ostéomyélite aiguë** cible la métaphyse osseuse, partie de l'os la plus richement vascularisée. À l'extrémité des vaisseaux métaphysaires, le réseau vasculaire se termine en de fines boucles sinusoïdales, siège d'un important ralentissement circulatoire qui favorise la greffe bactérienne locale en cas de bactériémie [3]. De plus, le risque d'embolisation septique est maximal au niveau de la métaphyse des os longs, car ces os ont le potentiel de croissance le plus élevé et le réseau vasculaire développé en proportion. Les IOA peuvent également survenir au niveau du rachis définissant les spondylodiscites. La structure des zones de croissance vertébrales est un peu différente de celle des chondroépiphyses, mais la physiopathologie de ces infections reste similaire à celle des infections atteignant les membres [9].

2.2.2. Facteurs favorisants

Le développement de l'infection est multifactoriel et dépend de l'interaction entre l'agent pathogène et les réactions de défense de l'organisme [5].

2.2.2.1. Facteurs de l'hôte

Toutes les bactériémies physiologiques n'aboutissent pas à une IOA. Les processus physiopathologiques dépendent de l'inoculum bactérien, de la virulence du microorganisme mais également de facteurs locaux et généraux, comme le statut circulatoire et les défenses immunitaires de l'hôte [5]. Les facteurs généraux reconnus comme favorisant la survenue d'une IOA sont de manière non exhaustive : le diabète sucré, l'éthylisme chronique, un âge supérieur à 60 ans, la toxicomanie, et l'immunodépression qui peut être d'origine pathologique (VIH) ou iatrogène (corticothérapie à fortes doses et/ou prolongée, chimiothérapie anti-cancéreuse...) [10].

Une IOA peut donc survenir sur un os ou une articulation antérieurement sains, ou compliquer l'évolution d'une articulation antérieurement lésée (i) par un processus dégénératif (arthrose, rhumatisme inflammatoire comme la polyarthrite rhumatoïde, tendinopathie), (ii) par une chirurgie (traumatisme articulaire, mise en place d'un matériel prothétique articulaire), ou (iii) par un microtraumatisme sans effraction [9]. La polyarthrite rhumatoïde est l'élément le plus fréquemment identifié, probablement car elle associe plusieurs facteurs de risque, à savoir des atteintes articulaires et un traitement immunosuppresseur [10]. En effet, l'incidence des arthrites septiques est multipliée par un facteur d'environ dix chez les patients souffrant de polyarthrite rhumatoïde, mais aussi chez ceux porteurs d'une prothèse articulaire [10]. En pédiatrie, quelques particularités physiopathologiques peuvent expliquer certaines spécificités des IOA qui les différencient nettement des infections observées chez l'adulte. Tout d'abord, un mode d'inoculation principalement bactériémique dont les agents sont variables selon l'âge⁽¹⁾, alors que chez l'adulte, la contamination est plus

1. cf. article « Infections ostéo-articulaires à bacilles à Gram négatif » dans ce même numéro.

Tableau I : Épidémiologie des principales bactéries impliquées dans les arthrites septiques [15].

	Tous patients confondus	Age	Groupes à risque
Origine hématogène	<i>S. aureus</i>	< 2 mois : <i>S. aureus</i> et <i>S. agalactiae</i> 2 mois – 5 ans : <i>S. aureus</i>, <i>S. pyogenes</i>, <i>S. pneumoniae</i>, <i>Kingella kingae</i>, <i>H. influenzae</i> Après 5 ans : <i>S. aureus</i>, <i>S. pyogenes</i> Adulte jeune : <i>N. gonorrhoeae</i>	- Arthrite rhumatoïde : <i>S. aureus</i> - Toxicomanie intraveineuse : <i>S. aureus</i>, pathogènes opportunistes, bacilles à Gram négatif - Sujets âgés et patients avec maladie chronique : <i>S. agalactiae</i> - Patients immunodéprimés : Bacilles à Gram négatif
Pathologie d'inoculation directe	- <i>Pasteurella multocida</i> et <i>Capnocytophaga canimorsus</i> après une morsure animale - <i>Streptobacillus moniliformis</i> après morsure de rat - <i>Eikenella corrodens</i> après morsure humaine - <i>Borrelia burgdorferi</i> en cas de piqûre de tique (maladie de Lyme) - <i>P. acnes</i>, Staphylocoques à coagulase négative (injections de corticoïdes)		
<i>S. aureus</i> : <i>Staphylococcus aureus</i> ; <i>S. agalactiae</i> : <i>Streptococcus agalactiae</i> ; <i>S. pneumoniae</i> : <i>Streptococcus pneumoniae</i> ; <i>H. influenzae</i> : <i>Haemophilus influenzae</i> ; <i>N. gonorrhoeae</i> : <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>P. acnes</i> : <i>Propionibacterium acnes</i> .			

souvent traumatique ou chirurgicale et survient sur des terrains particuliers (diabète sucré, prothèse, maladie rhumatismale) [8]. Le jeune nourrisson présente une anatomie vasculaire et tissulaire qui favorise l'extension articulaire (anastomoses entre les réseaux métaphysaire et épiphysaire) expliquant la prédominance de ces infections avant l'âge de 5 ans [7]. Toutefois, le pronostic des IOA chez l'enfant (arthrite à *Kingella kingae* ou *Staphylococcus aureus*) est globalement bon car un terrain généralement sain et un os richement vascularisé permettant la diffusion des antibiotiques réduisent le risque d'échec thérapeutique et le passage à la chronicité (moins de 5 % des cas) [8]. À l'opposé, l'évolution est plus souvent médiocre chez l'adulte avec un passage fréquent à la chronicité, la survenue d'abcès et de séquestres intra-osseux dont la prise en charge est alors chirurgicale [11].

2.2.2.2. Facteurs bactériens

La majorité des IOA d'origine bactérienne sont liées à *S. aureus*. Le pouvoir pathogène de cette bactérie a donc été naturellement le mieux étudié, essentiellement grâce à des modèles expérimentaux [3]. Les facteurs de virulence identifiés peuvent également être partagés par d'autres espèces bactériennes, ce qui en fait un bon modèle d'étude⁽²⁾ [12-13]. Enfin, *S. aureus* est capable de s'organiser en biofilm, comme d'autres espèces telles que les staphylocoques à coagulase négative, *Escherichia coli* ou *Pseudomonas aeruginosa*. Au sein du biofilm, des réseaux de communications intercellulaires et des signaux de passage en phase stationnaire de croissance (quiescence) se mettent alors en place conduisant à la formation de « variants colonies » naines. Ces micro-colonies peuvent se maintenir de façon prolongée dans la matrice osseuse, à l'abri des défenses immunitaires et des antibiotiques. Cet échappement peut aboutir à une infection subaiguë et des rechutes infectieuses [14].

2.2.2.3. La réponse immunitaire de l'hôte

Le système immunitaire va également participer aux lésions cellulaires par le recrutement de monocytes/macrophages et de polynucléaires neutrophiles lors de la

réaction inflammatoire [5]. En effet, ces cellules ont des effets bénéfiques qui permettent de réduire la mortalité due au sepsis en facilitant la clairance bactérienne [5]. Néanmoins, elles vont aussi entraîner une intensification de la sévérité des atteintes articulaires, d'une part, en libérant des radicaux libres oxygénés et des protéases lysosomales et, d'autre part, en entretenant la production en cascade de nombreuses cytokines pro-inflammatoires [5]. Lorsque des superantigènes sont sécrétés par la bactérie (TSST-1, leucocidine de Panton-Valentine, entérotoxines de *S. aureus*), la réponse inflammatoire de l'hôte se trouve accentuée, avec une proportion accrue de lymphocytes T activés [5,9].

3. Les différents types d'infections ostéo-articulaires

3.1. Les infections primitives

Les IOA qui surviennent de manière primitive regroupent deux grands types de pathologies différentes : les arthrites septiques, qui sont des infections des articulations et, les ostéomyélites, qui sont des infections des métaphyses ou des épiphyses au contact des cartilages de croissance. La distinction entre ces deux entités cliniques est habituelle mais une infection primitivement osseuse peut contaminer l'articulation, de même qu'une infection articulaire peut se compliquer d'une ostéomyélite [6,15].

3.1.1. Arthrite septique

L'arthrite septique correspond à l'infection d'une articulation par une bactérie. Elle se distingue ainsi des arthrites post-infectieuses ou réactionnelles qui sont également d'origine infectieuse, mais pour lesquelles le microorganisme se développe à distance de l'articulation.

Tous les individus peuvent être atteints mais la prévalence des arthrites septiques est plus importante chez l'enfant et la personne âgée, notamment s'ils sont de sexe masculin [9]. Dans l'arthrite septique, le plus souvent, la bactérie diffuse par voie hématogène à partir d'un foyer infectieux à distance, ce qui explique l'importance de la recherche d'une porte d'entrée, apparente ou non. En fonction de l'âge du patient et de la source de l'infection, l'épidémiologie des arthrites septiques diffère (**Tableau I**).

2. cf. article « Infections ostéo-articulaires à *Staphylococcus aureus* » dans ce même numéro.

L'atteinte de la synoviale est généralement responsable d'une arthrite pure, sans infection osseuse. La riche vascularisation des diarthroses, notamment par de nombreuses branches artérielles péri-articulaires qui traversent la capsule fibreuse favorise cette atteinte. La pénétration du micro-organisme est suivie d'une réaction inflammatoire avec une hyperhémie locale et une réaction cellulaire riche en polynucléaires. La multiplication bactérienne dans l'articulation engendre un épanchement purulent qui contient des enzymes protéolytiques libérées par les polynucléaires neutrophiles (collagénases et élastases, principalement) et responsables de la destruction articulaire. Si une atteinte osseuse épiphysaire ou métaphysaire est associée, il s'agit d'une ostéo-arthrite qui se rencontre plutôt chez le nourrisson (réseau interphysaire entre métaphyse et épiphyse) [7]. L'arthrite septique est donc considérée, à juste titre, comme une urgence diagnostique et thérapeutique, puisqu'en l'absence d'un traitement antibiotique précoce et adapté, le risque d'envahissement septique loco-régional voire général est élevé, mettant en jeu le pronostic vital du patient, ainsi que le pronostic fonctionnel de l'articulation touchée. La morbidité revêt surtout la forme de séquelles articulaires fonctionnelles invalidantes consécutives à l'atteinte voire la destruction complète du revêtement cartilagineux (chondrolyse, fibrose).

Chez le nourrisson et l'enfant, une atteinte des cartilages de croissance est possible avec pour conséquence des troubles de la croissance osseuse [7,8]. Le degré de destruction articulaire (synoviale, cartilage, os) dépend pour une large part du délai de la mise en route d'un traitement adapté⁽³⁾ [16].

3.1.2. Ostéomyélite infectieuse

L'ostéomyélite infectieuse est généralement monomicrobienne. Classiquement due à *S. aureus*, *Streptococcus agalactiae* et *E. coli* peuvent également être impliqués chez les nourrissons. Plus tard, dans l'enfance, *Streptococcus pyogenes* et *Haemophilus influenzae* deviennent plus communs bien que l'incidence de *H. influenzae* ait diminué depuis la généralisation de la vaccination contre cette bactérie. Chez l'adulte, *S. aureus* reste le pathogène impliqué dans l'immense majorité des cas. Néanmoins, d'autres micro-organismes peuvent être identifiés, notamment à la faveur d'une immunodépression : *Enterococcus* spp., *P. aeruginosa*, *Enterobacter* spp., *Mycobacterium* spp., bactéries anaérobies et espèces fongiques [6].

3.1.2.1. Ostéomyélite de l'enfant

Dans sa forme aiguë, l'ostéomyélite survient habituellement chez l'enfant et l'adolescent ; elle se localise surtout au niveau des métaphyses fertiles des os longs (principalement fémur et tibia) après un épisode de bactériémie. En effet, le réseau vasculaire osseux est particulièrement développé chez l'enfant en croissance, notamment au niveau des grosses articulations des os longs. Les extrémités de ces os, métaphyse et épiphyse, sont vascularisées à partir d'un triple réseau : métaphysaire, périphérique, et épiphysaire. Le débit sanguin diffère nettement selon le

réseau vasculaire, et c'est la métaphyse osseuse, la plus richement vascularisée, qui est susceptible d'être soumise à de fréquents embols bactériens [17]. Il n'est pas rare de noter dans les antécédents récents d'une ostéomyélite aiguë hémotogène, un traumatisme local ou la notion d'une infection cutanée ayant servi de porte d'entrée à la bactérie. La guérison est habituellement obtenue si un traitement antibiotique et une immobilisation sont débutés précocement. Dans le cas contraire, l'infection peut s'étendre en direction de la diaphyse (pandiaphysite), du périoste (abcès sous-périosté et fistulisation à la peau) ou de l'épiphyse et de l'articulation. Dans ce dernier cas, chez l'enfant de plus d'un an, l'infection est stoppée par le cartilage de conjugaison [9]. La diffusion de l'infection aiguë à l'articulation aboutit au tableau classique d'ostéo-arthrite du jeune nourrisson. Une mauvaise prise en charge thérapeutique sera à l'origine de complications, allant du trouble de la croissance à la destruction du cartilage articulaire, laissant autant de séquelles définitives qui pourront peser durant toute la vie socioprofessionnelle de l'adulte.

3.1.2.2. Ostéomyélite de l'adulte

Chez l'adulte, l'ostéomyélite aiguë est beaucoup plus rare. Habituellement diaphysaire, elle s'accompagne rarement d'abcès sous-périostés ou d'une diffusion à l'ensemble de la diaphyse. L'ostéomyélite est souvent chronique et apparaît fréquemment à la suite d'une inoculation directe, après fracture ouverte ou plaie infectée [6]. Dans ce contexte, la survenue d'abcès et de séquestres intra-osseux n'est pas rare. En effet, la thrombose des vaisseaux nourriciers suite au processus septique et le décollement du périoste par le liquide purulent peuvent entraîner une nécrose osseuse menant à la formation d'un séquestre. Ce processus entretient une suppuration qui conduira à une fistulisation à la peau. La guérison est souvent difficile à obtenir, y compris avec une prise en charge chirurgicale adaptée. L'usage emploie d'ailleurs le terme de « rémission » lors d'une ostéomyélite [6].

3.1.2.3. Spondylodiscite infectieuse

La spondylodiscite infectieuse est une infection d'un ou de plusieurs disques intervertébraux et des deux vertèbres adjacentes. L'infection peut concerner le corps vertébral, le disque, les zones para-vertébrales, et/ou le canal rachidien. L'atteinte est généralement lombaire (60 à 70 % des cas), plus rarement thoracique ou cervicale, et porte sur un seul étage (80 % des cas) [18]. L'atteinte de plusieurs segments est plus fréquente au cours des spondylodiscites tuberculeuses (23 % versus 9 % des spondylodiscites à bactéries pyogènes), de même que l'atteinte thoracique [18]. La contamination hémotogène est la plus fréquente (60 à 80 %), en particulier chez l'enfant, du fait d'une bonne vascularisation des disques chez les sujets jeunes alors qu'elle est plus rare chez l'adulte [18]. Elle peut provenir d'une dissémination à partir d'un foyer primaire (endocardite, abcès, infections urinaire, pulmonaire ou pelvienne, toxicomanie par voie intra-veineuse), ou faire suite à un geste chirurgical à distance (chirurgies pelvienne, urinaire, vasculaire, cardiaque ou viscérale) compliqué d'une infection régionale. L'inoculation directe au niveau disco-vertébral peut se produire à la suite d'un geste local : ponction, infiltration, discographie, laminec-

3. cf. article « Traitement des infections ostéo-articulaires » dans ce même numéro.

tomie, discectomie, ou chirurgie rachidienne [18]. L'inoculation par contiguïté à partir d'une infection de voisinage comme un abcès adjacent ou une greffe aortique infectée est plus rare, observée dans environ 3 % des cas [9].

Ces infections sont en général monomicrobiennes, bien qu'il existe des infections poly-microbiennes, en cas de pathologie chronique ou d'immunodépression. Les principaux pathogènes en cause sont présentés dans le **tableau II**. En l'absence de traitement, qui associe antibiothérapie adaptée, immobilisation et rééducation, l'évolution d'une spondylodiscite peut se faire vers l'extension locale, avec diffusion vers les muscles para-vertébraux et le canal médullaire (épidurite, abcès), associée à des lésions neurologiques parfois irréversibles [18,19].

3.1.3. Les ostéites secondaires

Les ostéites par inoculation hémotogène (spondylodiscite) ou par inoculation directe (infection de matériel orthopédique, infection post-traumatiques secondaires à une fracture ouverte ou pied diabétique) sont essentiellement liées à *S. aureus*, premier pathogène responsable de ce type d'infections.

3.1.3.1. Ostéite

L'ostéite est définie comme un « terme générique regroupant les infections osseuses traumatiques ou survenant après un geste chirurgical ». Elle est dite aiguë si elle évolue depuis moins d'un mois, ou chronique au-delà de ce délai [20]. Les ostéites post-chirurgicales sont dites précoces ou tardives selon leur délai d'apparition par rapport au geste chirurgical, sachant que depuis l'antibioprophylaxie chirurgicale systématique, la plupart des infections post-opératoires sont plutôt de révélation tardive (après trois mois) [1].

Les ostéites résultent donc généralement d'une inoculation directe du microorganisme. La contamination se fait soit à l'occasion d'un traumatisme à partir de la microflore cutanée ou de l'environnement (tellurique, hydrique,...), comme dans le cas des fractures ouvertes ; soit à l'occasion d'une intervention chirurgicale ou pendant la période post-opératoire précoce à travers la cicatrice opératoire. L'écologie microbienne sera différente selon le contexte clinique.

Le risque de développer une infection sur fracture ouverte augmente avec le stade de gravité de la fracture, mesuré par la classification de Gustilo [21]. Cette classification prend en compte les lésions musculaires et vasculaires associées à la fracture et attribue au grade I un risque d'infection entre 0 et 2 %, au grade II un risque entre 1 et 7 %, et au grade III un risque entre 10 et plus de 50 %. En cas de mise en place de matériel, la pathogenèse rejoint alors celle des infections sur prothèse.

3.1.3.2. Ostéite du pied chez le diabétique

Un chapitre dédié à cette thématique est présenté dans ce numéro.

3.1.3.3. Infections ostéo-articulaires sur matériel

Définition

Les infections ostéo-articulaires dites complexes (IOAC) recouvrent essentiellement les infections sur matériel prothétique ou d'ostéosynthèse, ainsi que les infections post-traumatiques (fractures ouvertes). Elles peuvent

Tableau II : Principales bactéries impliquées dans les spondylodiscites [18].

Spondylodiscite d'origine hémotogène	- <i>Staphylococcus aureus</i> (40 %) - Entérobactéries (20 à 30 %) - Streptocoques/entérocoques - <i>Mycobacterium tuberculosis</i> - <i>Brucella</i> spp.
Spondylodiscite post-opératoire	- Staphylocoques à coagulase négative dont <i>Staphylococcus epidermidis</i> - <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Propionibacterium acnes</i> - <i>Pseudomonas aeruginosa</i> - <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> - Streptocoques

mettre en jeu le pronostic vital mais, beaucoup plus souvent, le pronostic fonctionnel. Leur prise en charge demeure complexe et fait appel à plusieurs disciplines : chirurgiens (orthopédique et plastique), bactériologistes, infectiologues, radiologues, ainsi que les anesthésistes, rééducateurs fonctionnels, rhumatologues, hygiénistes et pharmaciens.

Impact sociétal

Les projections américaines estiment que le nombre de poses de prothèse totale de hanche (PTH) et de genou (PTG) devrait augmenter respectivement de 174 et 673 % d'ici 2030. Parallèlement, le nombre de révisions de ces prothèses devrait doubler, dans les 10 années à venir [22]. Ainsi, le coût de la prise en charge des infections sur prothèse dépasse 50 000 dollars par patient et augmente de 250 000 millions de dollars par an, impactant considérablement les budgets nationaux, en matière de Santé [23]. Trois facteurs expliquent l'augmentation du nombre d'infections ostéo-articulaires sur matériel (IOAM) : le nombre croissant de poses de prothèse chez des patients âgés, l'allongement de la durée de vie avec une prothèse et l'amélioration de l'expertise des bactériologistes dans la détection et l'identification des bactéries potentiellement impliquées [24,25]. En France, la prise en charge adéquate des IOAM, enjeu majeur de Santé publique, a conduit le Ministère de la Santé à identifier, dès 2008, des centres de référence régionaux regroupant les compétences des différentes spécialités concernées.

Classification des infections ostéo-articulaires sur prothèse

Classiquement, les infections sur prothèse sont classées en fonction du délai entre l'apparition des manifestations cliniques et la date de la chirurgie. Elles sont alors étiquetées comme « précoces », « retardées » ou « tardives ». En fonction des différentes classifications des sociétés savantes (IDSA, SPILF, MSIS, EBJIS), il est classiquement admis de parler d'infection précoce si elle survient dans le premier mois post-opératoire, d'infection retardée entre le 2^e et le 6^e mois, et d'infection tardive plus de 6 mois après la chirurgie [21,26-28].

Infections précoces et retardées

Les infections précoces et retardées sont typiquement des infections d'origine exogène. Le premier type est associé

Tableau III : Classification des infections ostéo-articulaires sur prothèse [21].

	Infection précoce	Infection retardée	Infection tardive
Délai après chirurgie	< 1 mois	1 mois – 6 mois	> 6 mois
Pathogénèse probable	Inoculation péri-opératoire	Inoculation péri-opératoire	Dissémination hématogène
Pathogènes fréquemment impliqués	<i>Staphylococcus aureus</i> Staphylocoques à coagulase négative Bacilles à Gram négatif	Flore cutanée : Staphylocoques à coagulase négative <i>Corynebacterium</i> spp. <i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> Streptocoques Entérobactéries

principalement à des micro-organismes virulents comme *S. aureus* ou *E. coli*, alors que les infections retardées sont principalement dues à des bactéries considérées comme moins virulentes, comme les staphylocoques à coagulase négative ou *Propionibacterium acnes* [21].

Infections tardives

Les infections tardives apparaissent classiquement après une période asymptomatique. Leur origine est généralement hématogène. La porte d'entrée habituelle est cutanée. Toutefois, une origine urinaire, respiratoire, intestinale voire dentaire peut être rencontrée. Souvent, aucune porte d'entrée évidente ne peut être évoquée. Il s'agit alors d'une bactériémie primaire ou d'une infection primaire déjà guérie lorsque les symptômes de l'infection sur prothèse apparaissent. *S. aureus* est la bactérie la plus fréquemment responsable d'infections sur prothèse d'origine hématogène.

Épidémiologie

Le remplacement d'une articulation par une prothèse, quel qu'en soit le motif, est de plus en plus fréquent lorsque celle-ci devient douloureuse ou fonctionnellement instable. En 2010, en France, ces interventions ont représenté 128 843 arthroplasties de hanche et 66 305 arthroplasties de genou [29]. L'antibioprophylaxie adaptée et les blocs opératoires équipés de flux laminaires ont respectivement réduit les risques d'infection du site opératoire (ISO), après remplacement de la hanche et du genou, à moins de 1 et 2 % [1]. Toutefois, ce risque est susceptible d'augmenter de 20 %, lors d'une reprise ou d'une révision de prothèse. Malgré des progrès considérables dans la prévention et le traitement de ces infections, le nombre absolu de patients dont la prothèse s'est infectée augmente. Ces infections peuvent faire l'objet de complications, responsables d'une morbidité significative [1].

Globalement, les principaux microorganismes responsables d'infections sur prothèse de hanche ou de genou sont les staphylocoques à coagulase négative (30-43 %) et *S. aureus* (12-23 %), suivis par les streptocoques (9-10 %), les entérocoques (3-7 %), les bacilles à Gram négatif (6-15 %) et les bactéries anaérobies strictes (2-4 %). Des infections poly-microbiennes sont observées dans environ 10 % des cas. Enfin, aucune bactérie n'est isolée dans 10 à 15 % des cas, compte tenu des difficultés du diagnostic biologique et de l'exposition préalable aux antibiotiques. Le rôle des techniques de biologie moléculaire demeure à préciser même s'il a été démontré que l'apport de la PCR de l'ARNr 16S est faible [24].

Physiopathologie des infections sur prothèse

L'inoculation du matériel peut être d'origine exogène (péri-opératoire ou post-opératoire) ou hématogène (à distance du geste chirurgical) [30].

Infections péri-opératoires

Les infections exogènes débutent généralement pendant la chirurgie ou immédiatement après, en cas d'anomalies de guérison de la plaie, notamment en raison d'un large hématome. Plus rarement, les infections exogènes apparaissent tardivement, au décours d'une arthrocentèse ou d'une perforation cutanée, spontanée ou traumatique, causée par le matériel [30]. Les bactéries en cause sont principalement les staphylocoques à coagulase négative ou *P. acnes* (tableau III).

Infections d'origine hématogène

Si le risque s'avère plus élevé en post-opératoire immédiat, les infections d'origine hématogène sont observées à tout moment, après la chirurgie. En effet, la présence d'un corps étranger diminue localement les défenses immunitaires [30]. L'accumulation de granulocytes autour de la prothèse conduit à une altération de leur fonction, probablement due à une phagocytose « frustrée », menant à une dégranulation et donc à la production de formes réactives de l'oxygène. Cette immunodépression locale favorise l'ensemencement préférentiel de l'implant. De plus, la présence du matériel diminue l'inoculum nécessaire à l'infection. Ainsi, que ce soit sur modèle animal ou chez l'Homme, la quantité de bactéries nécessaires pour former un abcès à *S. aureus* est 10 000 fois inférieure, en présence de matériel étranger. Les bactéries en cause sont principalement *S. aureus* ou les bacilles à Gram négatif d'origine cutanée (tableau III).

Rôle du portage nasal de *S. aureus*

S. aureus est fréquemment détecté dans les microflores commensales. Il colonise ainsi environ 20 à 35 % de la population adulte, selon les études. La population générale se divise en 3 groupes : les porteurs permanents (20 %), les porteurs intermittents (30 %) et les non porteurs (50 %). Bien que le nez soit la principale niche écologique de *S. aureus*, les colonisations extra-nasales au niveau de la peau, de la gorge et des intestins sont bien documentées. Le portage nasal de *S. aureus* est considéré comme un facteur de risque de développer une infection après la pose d'une prothèse. Toutefois, une étude récente montre que ce portage ne présage pas systématiquement d'une ISO avec la même souche de *S. aureus* [31]. À la différence

de la chirurgie cardiaque, l'intérêt d'une décontamination nasale systématique, avant la pose de prothèse, reste à démontrer.

4. Conclusion

Malgré l'absence de « gold standard » dans la définition d'une IOA avec différentes classifications proposées, qu'elles soient primitives ou secondaires, d'origine hémato-gène ou par inoculation directe, l'épidémiologie des IOA est dominée par *S. aureus*. Les IOA sur matériel représentent un cas particulier avec, selon les séries, une prédominance de staphylocoques à coagulase négative. Leur impact

en termes de morbi-mortalité est un problème majeur de santé publique, justifiant la création en 2008, des Centres de Références des Infections Ostéo-articulaires.

Le traitement des IOA repose sur l'identification précise et rapide du ou des micro-organismes incriminés. La mise en évidence des bactéries en cause est obtenue par mise en culture de prélèvements liquidiens, tissulaires et osseux. Un antibiogramme sera réalisé sur tous les morphotypes, le plus précocement possible, afin de permettre au clinicien d'adapter l'antibiothérapie.

Conflits d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts avec le contenu de cet article

Références

- [1] Zimmerli W, Trampuz A, Ochsner PE. Prosthetic-joint infections. *N. Engl. J. Med.* 2004; 351:1645–1654.
- [2] Grammatico-Guillon L, Baron S, Gettner S, et al. Bone and joint infections in hospitalized patients in France, 2008: clinical and economic outcomes. *J. Hosp. Infect.* 2012; 82:40–48.
- [3] Mandal S, Berendt AR, Peacock SJ. *Staphylococcus aureus* bone and joint infection. *J. Infect.* 2002; 44:143–151.
- [4] Brady RA, Leid JG, Calhoun JH, Costerton JW, Shirtliff ME. Osteomyelitis and the role of biofilms in chronic infection. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2008; 52:13–22.
- [5] Wright JA, Nair SP. Interaction of staphylococci with bone. *Int. J. Med. Microbiol.* 2010; 300:193–204.
- [6] Lew DP, Waldvogel FA. Osteomyelitis. *Lancet* 2004; 364:369–379.
- [7] Dessi A, Crisafulli M, Accossu S, Setzu V, Fanos V. Osteo-articular infections in newborns: diagnosis and treatment. *J. Chemother* 2008; 20:542–550.
- [8] Gutierrez K. Bone and joint infections in children. *Pediatr. Clin. North Am.* 2005; 52:779–794, vi.
- [9] Allais E. Diagnostic bactériologique des infections ostéo-articulaires : apport d'une nouvelle technique basée sur la technologie des puces à ADN Thèse d'exercice. Faculté de Pharmacie. Lyon. 2010.
- [10] Cordero-Ampuero J, de Dios M. What are the risk factors for infection in hemiarthroplasties and total hip arthroplasties? *Clin. Orthop. Relat. Res.* 2010; 468:3268–3277.
- [11] Zimmerli W, Ochsner PE. Management of infection associated with prosthetic joints. *Infection* 2003; 31:99–108.
- [12] Speziale P, Pietroluca G, Rindi S, et al. Structural and functional role of *Staphylococcus aureus* surface components recognizing adhesive matrix molecules of the host. *Future Microbiol* 2009; 4:1337–1352.
- [13] Crémieux A-C, Dumitrescu O, Lina G, et al. Panton-valentine leukocidin enhances the severity of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* rabbit osteomyelitis. *PLoS ONE* 2009; 4:e7204.
- [14] Götz F. *Staphylococcus* and biofilms. *Mol. Microbiol.* 2002; 43:1367–1378.
- [15] García-Arias M, Balsa A, Mola EM. Septic arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2011; 25:407–421.
- [16] Goldenberg DL, Reed JL. Bacterial arthritis. *N. Engl. J. Med.* 1985; 312:764–771.
- [17] Grimprel E, Cohen R. [Epidemiology and physiopathology of osteoarticular infections in children (newborns except)]. *Arch Pediatr* 2007; 14 Suppl 2:S81–85.
- [18] Cottle L, Riordan T. Infectious spondylodiscitis. *J. Infect.* 2008; 56: 401–412.
- [19] [Primary infectious spondylitis, and following intradiscal procedure, without prosthesis. Recommendations]. *Med Mal Infect* 2007; 37:573–583.
- [20] Portier H, Choutet P, Peyramond D, Saimot A, Soussy C, Stahl J. Revue de la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française. Troisième conférence de consensus en thérapeutique anti-infectieuse. Les infections bactériennes ostéoarticulaires en dehors des infections à mycobactéries. *Med Mal Infect* 1991; 37:37–44.
- [21] [Recommendations for clinical practice. Osteo-articular infection therapy according to materials used (prosthesis, implants, osteosynthesis)]. *Med Mal Infect* 2009; 39:745–774.
- [22] Kurtz S, Ong K, Lau E, Mowat F, Halpern M. Projections of primary and revision hip and knee arthroplasty in the United States from 2005 to 2030. *J Bone Joint Surg Am* 2007; 89:780–785.
- [23] Cataldo MA, Petrosillo N, Cipriani M, Cauda R, Tacconelli E. Prosthetic joint infection: recent developments in diagnosis and management. *J. Infect.* 2010; 61:443–448.
- [24] Bémer P, Plouzeau C, Tande D, et al., Centre de Référence des Infections Ostéo-articulaires du Grand Ouest (CRIOGO) Study Team. Evaluation of 16S rRNA gene PCR sensitivity and specificity for diagnosis of prosthetic joint infection: a prospective multicenter cross-sectional study. *J. Clin. Microbiol.* 2014; 52:3583–3589.
- [25] Trampuz A, Widmer AF. Infections associated with orthopedic implants. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2006; 19:349–356.
- [26] Parvizi J, Zmistowski B, Berbari EF, et al. New definition for periprosthetic joint infection: from the Workgroup of the Musculoskeletal Infection Society. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 2011; 469:2992–2994.
- [27] Parvizi J, Gehrke T, Chen AF. Proceedings of the International Consensus on Periprosthetic Joint Infection. *Bone Joint J* 2013; 95-B:1450–1452.
- [28] Osmon DR, Berbari EF, Berendt AR, et al., Infectious Diseases Society of America. Diagnosis and management of prosthetic joint infection: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin. Infect. Dis.* 2013; 56:e1–e25.
- [29] Prothèse de hanche ou de genou : diagnostic et prise en charge des infections dans le mois suivant l'implantation. Available at: www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2012-03/note_cadrage_pec_ptg_ptg_infec_versionmel.pdf. Accessed 25 May 2012.
- [30] Sendi P, Zimmerli W. Challenges in periprosthetic knee-joint infection. *Int J Artif Organs* 2011; 34:947–956.
- [31] Berthelot P, Grattard F, Cazorla C, et al. Is nasal carriage of *Staphylococcus aureus* the main acquisition pathway for surgical-site infection in orthopaedic surgery? *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2010; 29:373–382.

Infections ostéo-articulaires à staphylocoques

Jean-Philippe Rasigade^{a,b,*}, Sophie Trouillet-Assant^a, Frédéric Laurent^{a,b}

RÉSUMÉ

Les infections ostéo-articulaires (IOA), majoritairement causées par *Staphylococcus* spp., sont grevées d'un risque élevé d'échec thérapeutique et de morbidité à long terme. Ce risque a été associé à une importante destruction osseuse et une évolution fréquente vers la chronicité ou la récurrence. Dans ce travail, nous proposons une synthèse des récentes avancées dans la compréhension physiopathologique des IOA staphylococciques. Nous décrivons : (1) comment certaines interactions entre *S. aureus*, le système immunitaire et les cellules de l'os déséquilibrent l'homéostasie du tissu osseux et aboutissent à une perte osseuse ; (2) les mécanismes d'adaptation des staphylocoques à l'infection chronique comme la vie en biofilm, la survie intracellulaire et le ralentissement métabolique, ainsi que leurs conséquences diagnostiques et thérapeutiques ; et (3) les particularités des IOA aiguës et destructrices liées à la synthèse d'une toxine nécrotique, la leucocidine de Panton-Valentine, par certains isolats de *S. aureus*.

Infections ostéo-articulaires – ostéomyélite – arthrite – *Staphylococcus aureus* – internalisation bactérienne – leucocidine de Panton-Valentine – small colony variant – biofilm.

1. Introduction

Les bactéries du genre *Staphylococcus* sont les principaux pathogènes responsables d'infections ostéo-articulaires (IOA) [1]. Les IOA staphylococciques, du fait de leur prévalence élevée en comparaison des IOA causées par d'autres bactéries, ont fait l'objet d'efforts de recherche soutenus qui ont abouti à une meilleure compréhension physiopathologique. Bien que de nombreuses inconnues subsistent, certains mécanismes pathogéniques récemment identifiés jouent probablement un rôle-clé dans l'évolution défavorable de certaines IOA et les fréquents échecs thérapeutiques. Ces mécanismes peuvent avoir des conséquences à la fois pronostiques et thérapeutiques : d'une part, la perturbation de la physiologie et du remodelage osseux par *S. aureus* impacte probablement le pronostic fonctionnel à long terme des IOA ; d'autre part, l'adaptation bactérienne à l'infection chronique sous forme d'émergence de variants phénotypiques, de vie en biofilm, ou de persistance intracellulaire,

pourrait diminuer les chances de succès de l'antibiothérapie [2, 3]. Enfin, certains cas rares d'ostéomyélites suraiguës et destructrices, touchant préférentiellement les enfants, ont été associés à des souches hypervirulentes de *S. aureus* porteuses d'une toxine nécrotique, la leucocidine de Panton-Valentine (PVL) [4].

2. Place des staphylocoques dans les IOA

S. aureus est le pathogène le plus fréquemment en cause dans les IOA, autant dans l'arthrite septique que dans l'infection osseuse proprement dite, et ce quelle que soit la voie de contamination, hématogène ou par contiguïté [1, 5, 6]. Une étude française analysant les données des bases PMSI nationales en 2008 et recensant 28453 patients atteints d'IOA montrait que le genre *Staphylococcus* spp. était à lui seul responsable de plus des deux tiers des cas [7]. Dans des populations d'origines géographiques variées, le genre *Staphylococcus* spp. est responsable de 37 à 67 % des cas d'arthrite septique [5, 8-10]. Les staphylocoques à coagulase négative (SCN) sont moins fréquemment isolés d'arthrites septiques, et représentent 3 à 16 % des isolats de *Staphylococcus* spp. [8-10]. La prévalence des staphylocoques au cours des infections osseuses est sensiblement équivalente à celle observée dans les arthrites septiques : *S. aureus* est isolé dans 38

SUMMARY

Staphylococcal bone and joint infections

Bone and joint infections (BJIs) are mainly caused by staphylococci. High rates of treatment failure and long-term functional sequelae in BJI patients have been associated to bone loss and frequent relapses or chronicization of the infection. In this review, we summarize recent findings that helped improve our understanding of BJI pathophysiology. The main points include: (1) the interactions of *S. aureus* with bone and immune cells, and how these interactions disrupt the homeostasis of the bone tissue and lead to bone damage; (2) how staphylococci adapt to chronic infection through the establishment of biofilms, the invasion of bone cells and the so-called phenotype switching phenomenon, three mechanisms that can have important consequences on the diagnosis and management of BJIs; and (3) peculiar forms of acute and destructive BJIs caused by some *S. aureus* isolates able to secrete the necrotic toxin Panton-Valentine leukocidin.

Bone and joint infections – osteomyelitis – arthritis – *Staphylococcus aureus* – bacterial internalization – Panton-Valentine leukocidin – small colony variant – biofilm.

^a INSERM U1111

Centre International de Recherche en Infectiologie, Université Lyon 1

^b Laboratoire de Bactériologie

Centre Hospitalier Lyon-Sud

Chemin du Grand Revoyet - 69495 Pierre-Bénite

Hospices Civils de Lyon

*Correspondance:

jean-philippe.rasigade@univ-lyon1.fr

article reçu le 30 septembre, accepté le 4 octobre 2015

© 2016 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

à 67 % des cas, les staphylocoques à coagulase négative dans 5 à 15 % [11-14]. Des rapports détaillés de la *Health Protection Agency* du Royaume-Uni sur la surveillance des infections de site opératoire (ISO) entre 1997 et 2005 ont pu déterminer que *S. aureus* était responsable de 41,4 % des cas d'infection sur prothèse totale de hanche, 59,1 % des cas d'infection sur prothèse partielle de hanche, 33,5 % des cas d'infection sur prothèse de genou et 53 % des cas d'infection après réduction chirurgicale de fracture ouverte. Les SCN étaient responsables quant à eux de 15,1 %, 6,3 %, 20,7 % et 7,5 % de ces infections, respectivement [15]. *S. epidermidis* est le SCN le plus prévalent dans de nombreux types d'infection, y compris les infections osseuses et les infections sur matériel prothétique, mais d'autres espèces de SCN ont été incriminées dont *S. simulans*, *S. hominis*, *S. capitis*, *S. caprae* et *S. lugdunensis* [16-19].

3. Physiopathologie de la perte osseuse au cours des IOA staphylococciques

La rupture de l'homéostasie du tissu osseux par l'infection bactérienne aboutit à une perte de tissu osseux, évaluée environ à 10-20 % du volume d'os cortical près du site infecté dans un modèle d'ostéomyélite murin [20]. Cette perte osseuse est probablement en cause dans les retards de consolidation de fractures ou les descellements de matériel prothétique observés au cours des IOA.

3.1. Physiologie du remodelage osseux

Le tissu osseux fait l'objet d'un remodelage continu qui assure le remplacement des tissus anciens et la réparation des micro-fractures [21]. Chez l'adulte, l'os trabéculaire est remplacé tous les 3 ou 4 ans, alors que le turn-over de l'os cortical est de plus de 10 ans [22]. Le squelette, dans son ensemble, est donc un système dynamique, dans un état de renouvellement continu assuré par l'action de deux types cellulaires, les ostéoblastes et les ostéoclastes (*figure 1*). Les ostéoblastes sont localisés sur les surfaces osseuses; ils assurent la synthèse et la minéralisation de la matrice osseuse [22, 23]. Les ostéoclastes jouent un rôle inverse en résorbant la matrice osseuse. Contrairement aux ostéoblastes, mononucléés et d'origine mésenchymateuse, les ostéoclastes sont multinucléés et dérivent de la lignée myéloïde. La résorption du tissu osseux, constitué de protéines enchâssées dans une matrice minéralisée, peut se décomposer en deux étapes: (i) la déminéralisation de la matrice, permettant l'accès aux constituants protéiques; et (ii) la dégradation par protéolyse de ces constituants protéiques. Les ostéoclastes expriment à leur surface des H⁺-ATPases ainsi que des canaux chloriques de type 7 (CIC7), permettant la sécrétion d'acide chlorhydrique dans un compartiment fermé, la lacune de résorption, aboutissant à la déminéralisation de la matrice [21, 22, 24, 25]. Cette déminéralisation rend alors possible la protéolyse des constituants protéiques, principalement due à la synthèse de cathepsine K, capable de lyser le collagène et l'ostéonectine [26, 27].

Un défaut d'équilibre entre les niveaux d'activité des ostéoblastes et des ostéoclastes est responsable de nombreuses

pathologies du remodelage osseux [28]. Par exemple, un excès d'activité ostéoclastique est en cause dans l'ostéoporose, alors qu'une activité ostéoblastique incontrôlée peut entraîner des pathologies telles que l'ostéopétrose ou l'ostéosclérose.

3.2. Conséquences de l'infection sur l'homéostasie osseuse

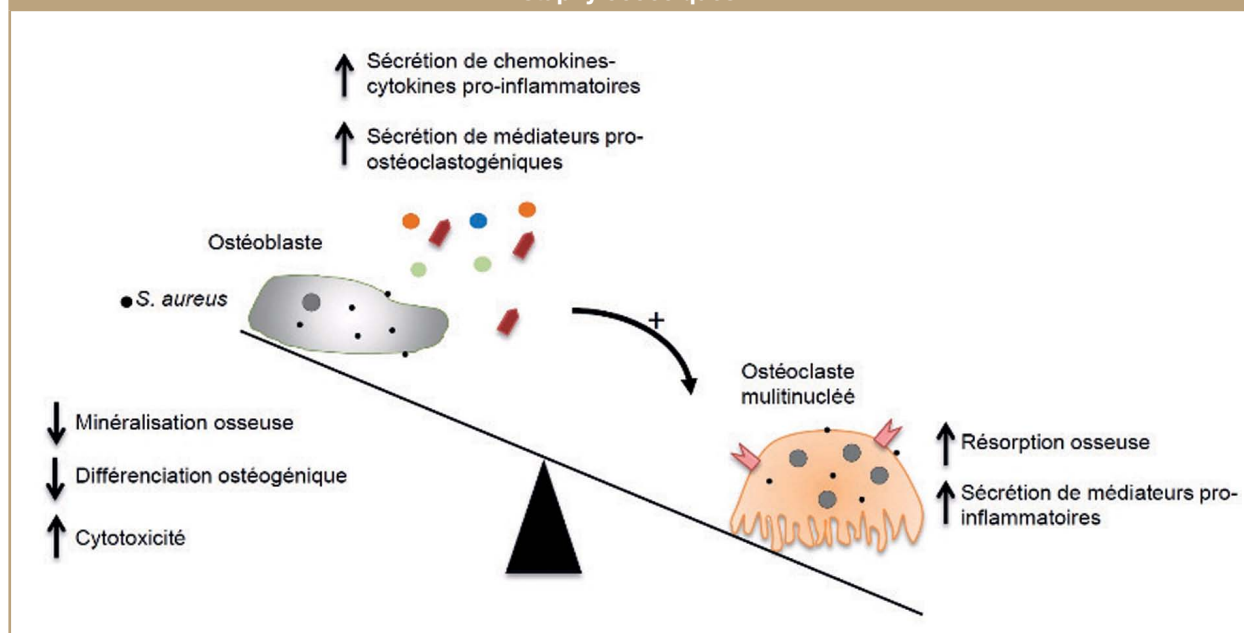
L'infection par un pathogène comme *S. aureus* peut provoquer un déséquilibre d'activité entre les ostéoblastes et les ostéoclastes, déséquilibre médié en partie par la réponse cytokinique des cellules infectées ou activées par contact avec la bactérie ou ses toxines.

Les cytokines de l'inflammation les plus importantes dans ce contexte sont le tumour necrosis factor α (TNF α), l'interleukine (IL) 1 β (la forme sécrétée de l'IL1), et l'IL6 [29]. Les patients atteints d'infection osseuse présentent une élévation des niveaux plasmatiques de ces trois cytokines [30, 31]. Des niveaux élevés d'IL1 β , d'IL6 et de TNF α sont également observés dans le liquide synovial des patients atteints d'arthrite septique [32, 33]. La principale source locale d'IL1 β et de TNF α est probablement l'infiltration du tissu osseux par des cellules immunitaires en réponse à l'infection [34-38]. Cependant, l'IL6 est également sécrétée par les ostéoblastes en réponse à de nombreux stimuli dont l'infection par *S. aureus* [34, 35]. Or ces différentes cytokines jouent un rôle majeur dans le remodelage osseux: les modèles de culture cellulaire indiquent que l'IL1 et le TNF α stimulent la prolifération des progéniteurs ostéoclastiques et leur différenciation en ostéoclastes, désignées sous le terme d'ostéoclastogénèse [37, 39, 40]. L'IL1 et le TNF α stimulent également l'activité de résorption osseuse chez les ostéoclastes; ce phénomène est observé en l'absence d'ostéoblastes mais semble potentialisé par leur présence [41-43]. De la même façon, l'IL6 stimule l'activité de résorption osseuse des ostéoclastes en modèle de culture de calvaria murin [35, 44]. D'autre part, l'IL1 et le TNF α inhibent la différenciation des cellules souches mésenchymateuses en ostéoblastes et abolissent la fonction de minéralisation des ostéoblastes matures, avec pour conséquence une réduction de la production de matrice osseuse et de sa minéralisation [45].

L'ensemble de ces données indique que la triade IL1 β , TNF α et IL6 joue un rôle prédominant dans la régulation du remodelage osseux, et que toute perturbation des niveaux d'expression de ces cytokines peut avoir un effet majeur sur ce remodelage. De façon plus générale, l'effet des cytokines sur l'homéostasie osseuse résulte de la combinaison d'effets pro- et anti-ostéoclastogéniques. Il est cependant clairement démontré que les médiateurs pro-inflammatoires de l'hôte, sécrétés au niveau local et systématiquement en réponse à l'infection par *S. aureus*, ont majoritairement un rôle pro-ostéoclastogénique [46].

Au-delà de sa capacité à induire une réponse inflammatoire qui impacte indirectement l'activité des ostéoblastes et des ostéoclastes, *S. aureus* est impliqué dans des interactions de nature plus directe avec ces cellules. L'infection par *S. aureus* contribue à réduire la différenciation des précurseurs mésenchymateux en ostéoblastes, ainsi que l'activité de formation osseuse des ostéoblastes matures [47, 48]. L'interaction directe entre *S. aureus* et les ostéoclastes provoque, de plus, une activation de ces derniers [46].

Figure 1 – Physiopathologie de la perte osseuse au cours des infections ostéo-articulaires staphylococciques.



L'infection par *Staphylococcus aureus* est responsable d'une rupture de l'homéostasie osseuse via trois mécanismes directs et indirects : (i) l'augmentation de la capacité de résorption osseuse des ostéoclastes ; (ii) l'inhibition de la capacité de minéralisation osseuse des ostéoblastes ; et (iii) le déclenchement d'une réponse inflammatoire majoritairement pro-ostéoclastogénique.

Ainsi, l'infection par *S. aureus*, en inhibant directement l'activité de minéralisation des ostéoblastes, en augmentant l'activité de résorption osseuse des ostéoclastes, et en déclenchant la sécrétion de médiateurs pro-inflammatoires, conduit *in fine* à la destruction du tissu osseux (figure 1).

4. Adaptation bactérienne à l'infection chronique : sanctuarisation intracellulaire, vie en biofilm et *small colony variants*

Les risques d'échec et de récurrence sont plus élevés dans les formes chroniques d'IOA que dans les ostéomyélites aiguës. Au-delà de facteurs liés à l'hôte comme l'âge, un mauvais état général ou la présence de matériel implanté, certains facteurs liés à l'adaptation des staphylocoques à l'infection chronique sont probablement à l'origine de ces difficultés de traitement. Trois phénomènes physiopathologiques sont à l'œuvre dans cette adaptation bactérienne : la localisation intracellulaire de *S. aureus* dans les ostéoblastes, l'adoption d'un mode de vie en biofilm, et l'émergence de variants phénotypiques au métabolisme ralenti dénommés *small colony variants*.

4.1. *S. aureus* envahit les ostéoblastes

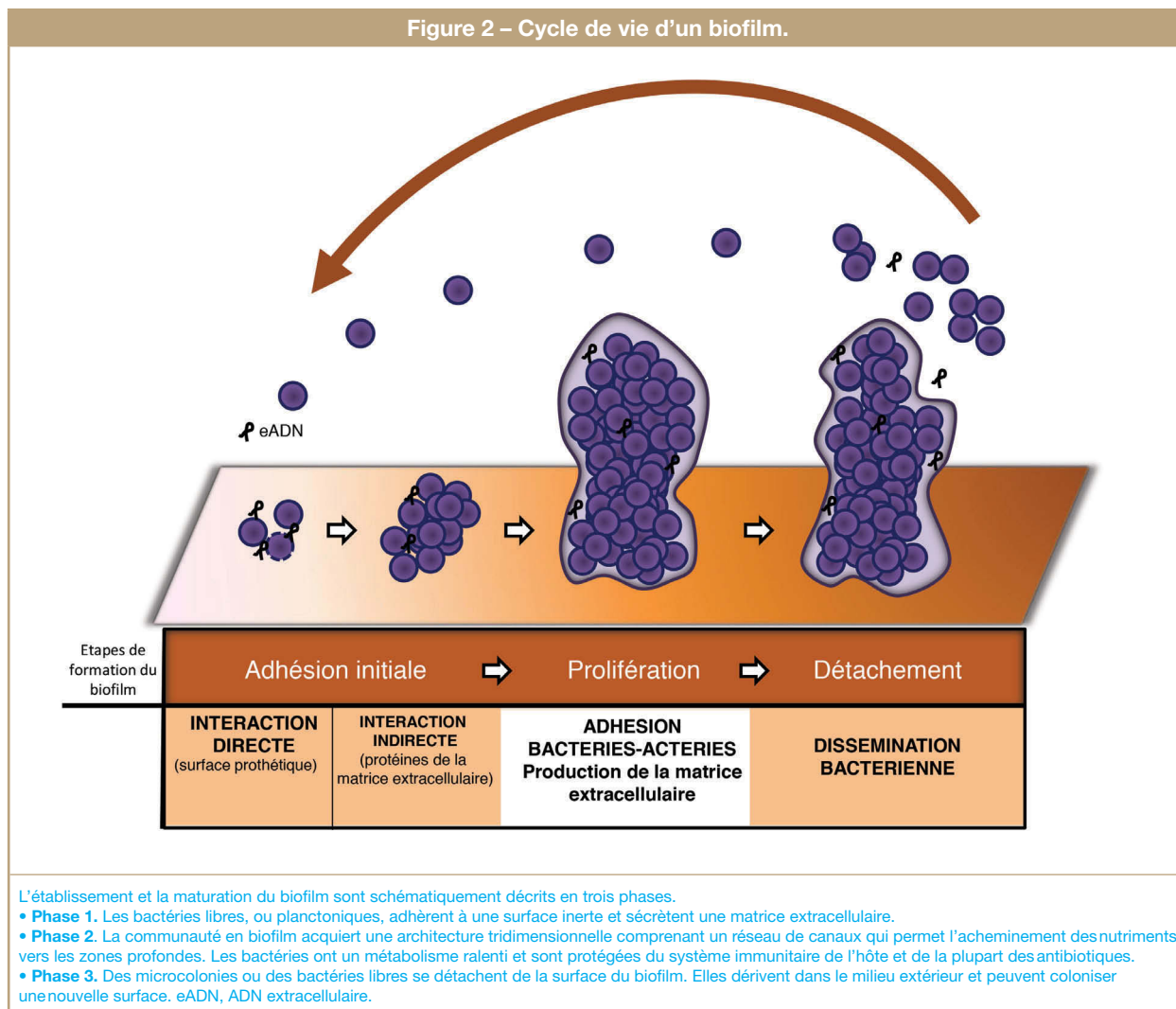
L'invasion et la persistance intracellulaire de *S. aureus* est documentée chez de nombreux types cellulaires dont les cellules épithéliales et endothéliales, les kératinocytes et les ostéoblastes [49-54]. L'invasion des ostéoblastes *in vivo* a également été démontrée en modèle animal [54]. De plus, les staphylocoques contenus dans le compartiment intracellulaire

d'ostéoblastes peuvent initier une nouvelle infection [55]. Bien que les données de la littérature soient insuffisantes pour affirmer formellement que cette invasion des ostéoblastes a lieu chez l'homme au cours des IOA, certains arguments sont en faveur de cette hypothèse comme l'observation à la coloration de Gram et en microscopie électronique à transmission, chez un patient souffrant d'une infection chronique et récurrente de la fibula, d'ostéoblastes contenant des bactéries à Gram positif présentant une morphologie en cocci évocatrice de *Staphylococcus* spp. [56]. Ainsi, l'hypothèse d'un phénomène de sanctuarisation intracellulaire, selon laquelle le caractère intracellulaire facultatif de *S. aureus* fournit à la bactérie une niche de protection, à l'abri du système immunitaire et de la plupart des antibiotiques, a progressivement été acceptée par une majorité d'auteurs ; elle est, de plus, considérée comme un phénomène explicatif plausible du caractère chronique, récurrent ou indolent de certaines infections osseuses d'une part, et d'autre part du taux élevé d'échec de l'antibiothérapie [2, 57]. Cependant, la pertinence clinique de la survie intracellulaire de *S. aureus* dans le cadre des IOA n'a pas encore été démontrée.

4.2. La vie en biofilm comme phénotype de persistance bactérienne

L'état des bactéries libres non adhérentes est qualifié de vie planctonique, par opposition à la vie en biofilm. Le biofilm est composé d'une communauté bactérienne sédentaire au sein de laquelle les bactéries adhèrent à un substrat extracellulaire, à une surface et/ou entre elles. Les données actuelles suggèrent que la production de biofilm est commune à toutes les souches de *S. aureus* isolées d'IOA sur prothèse alors que près d'un tiers des souches de *S. epidermidis* ne sont pas capables d'adopter ce mode de vie [58].

Figure 2 – Cycle de vie d'un biofilm.



Le cycle de vie d'un biofilm débute par l'adhésion de bactéries planctoniques à une surface inerte d'origine endogène (séquestre osseux) ou exogène (matériel prothétique; **(figure 2)**). Cette étape d'adhésion précède la multiplication des bactéries et leur agrégation en micro-colonies, dont la cohésion est assurée par la synthèse d'une matrice extracellulaire, le *slime*. Ce dernier est formé de différentes classes de macromolécules dont des protéines, des polysaccharides et des acides nucléiques provenant notamment de la lyse des cellules eucaryotes avoisinantes. L'épaisseur du biofilm peut varier d'une monocouche bactérienne à une épaisse communauté multi-dimensionnelle. L'analyse structurale des biofilms a dévoilé une architecture complexe, dont une caractéristique majeure est la présence d'un réseau de canaux qui permettent l'accès aux nutriments du milieu extérieur depuis les zones profondes de la communauté [59]. Le métabolisme des bactéries au sein du biofilm est altéré et leur croissance est ralentie. Lorsque le biofilm atteint son stade de maturation, un phénomène de dispersion, encore mal connu, permet le relargage de formes planctoniques dans le milieu extérieur [60-62]. Les bactéries ainsi libérées peuvent à leur tour coloniser une surface et établir un nouveau biofilm.

Les biofilms combinent plusieurs mécanismes de résistance aux stratégies d'élimination mécaniques, immunitaires ou chimiques : sur le plan mécanique, l'adhérence et la structure flexible d'un biofilm lui permettent de résister à l'arrachement sous l'effet d'un fluide circulant (contrainte de cisaillement exercée par exemple par un lavage au cours d'un abord chirurgical) ; sur le plan immunitaire, la matrice polymérique du biofilm joue un rôle de bouclier contre les cellules phagocytaires de l'hôte et les molécules antimicrobiennes au sens large comme les anticorps, les peptides antimicrobiens et les radicaux libres. Enfin, sur le plan chimique, la vie en biofilm confère aux bactéries une résistance accrue à de nombreux antibiotiques et antiseptiques [63]. Au final, la concentration d'antibiotique requise pour inhiber la croissance des bactéries vivant en biofilm peut être jusqu'à 1 000 fois supérieure à la concentration minimale inhibitrice habituellement mesurée sur les bactéries planctoniques [64] ; de plus, la résistance des biofilms à certaines molécules comme la vancomycine s'accroît avec leur durée d'évolution [65]. Le mode de vie en biofilm maintient ainsi un réservoir bactérien résilient contre le système immunitaire et les antibiotiques, tout en assurant simultanément la possibilité d'une dissémination bactérienne retardée.

4.3. Adaptation bactérienne par ralentissement métabolique : les *small colony variants*

L'infection chronique, qu'elle implique la vie en biofilm ou une localisation intracellulaire, est associée à des phénomènes d'adaptation bactérienne ayant en commun un ralentissement métabolique. Dans sa forme la plus caractéristique, ce ralentissement conduit à l'émergence de variants phénotypiques sous la forme de microcolonies à croissance fortement ralentie, les *small colony variants* (SCV). Les SCV ont été décrits autant chez *S. aureus* que chez les SCN, mais il ne sont pas spécifiques du genre *Staphylococcus* [3]. L'émergence de SCV résulte d'une adaptation des populations bactériennes à la pression de sélection spécifique de l'infection chronique, comme la baisse des ressources et le stress provoqué par la réponse cellulaire et/ou immunitaire. Le phénotype SCV est particulièrement adapté à la survie intracellulaire prolongée [66] : les bactéries présentant ce phénotype sont capables de persister dans le milieu intracellulaire en minimisant la réponse de défense de la cellule-hôte. Elles possèdent également une capacité accrue à envahir de nouvelles cellules par rapport aux bactéries présentant un phénotype sauvage. Leur rôle dans l'établissement d'une infection intracellulaire chronique, bien qu'encore débattu, pourrait être modélisé en trois étapes : i) parmi les bactéries impliquées dans l'infection, une sous-population gagne le milieu intracellulaire et développe un phénotype SCV ; ii) cette sous-population persiste dans un état viable, à l'abri de la destruction par la réponse immunitaire et les antibiotiques éventuellement administrés ; et iii) à la mort de la cellule-hôte, les SCV sont relargués dans le milieu extracellulaire et gagnent le cytoplasme de nouvelles cellules grâce à une capacité d'invasion accrue, établissant ainsi un réservoir bactérien pérenne, potentiellement source d'infection récidivante [66].

La vitesse de croissance ralentie des SCV diminue l'action des antibiotiques ciblant la paroi, comme dans le cas des bactéries se présentant sous forme de biofilm. Les SCV présentent également une interruption du transport transmembranaire d'électrons, qui a pour conséquence de diminuer la pénétration des aminosides qui utilisent le gradient électrochimique membranaire pour traverser la membrane bactérienne et atteindre leur cible ribosomale [3].

Les SCV chez *S. aureus* posent également une difficulté diagnostique aux microbiologistes : leur métabolisme lent négative certains tests phénotypiques utilisés pour l'identification bactérienne, comme les tests d'agglutination ou les galeries d'identification biochimique, et retarde la positivité d'autres tests comme la détection de coagulase libre ou la pigmentation des colonies de *S. aureus*. Ces particularités font courir le risque d'une erreur diagnostique, ces SCV pouvant être méconnus ou identifiés à tort comme des SCN. Les isolats suspects de présenter ce phénotype SCV, particulièrement dans un contexte d'infection chronique, doivent idéalement faire l'objet d'une confirmation d'espèce par une méthode non sensible au métabolisme comme la détection par PCR de gènes spécifiques de *S. aureus* ou l'identification par spectrométrie de masse [3].

Il a été proposé que les SCV et, de façon plus générale, les isolats présentant un métabolisme ralenti, étaient associés à la chronicité de l'infection et que leur présence pouvait signer cette chronicité [3]. Détecter la chronicité par une approche microbiologique présente un intérêt lorsque l'histoire clinique de l'IOA, souvent indolente, ne permet pas de dater avec précision le début des symptômes : la chronicité de l'infection est volontiers considérée comme associée à la présence d'un biofilm installé et/ou d'un réservoir intracellulaire, et la prise en charge médico-chirurgicale peut tenir compte de cette caractéristique. La détection d'isolats de *S. aureus* à métabolisme ralenti par spectrométrie de masse a été récemment décrite : une caractéristique fréquente de ces populations bactériennes est l'extinction du régulateur principal d'expression des toxines, *agr*. L'activité d'*agr* peut être estimée chez *S. aureus* en quantifiant le niveau d'expression de la delta-toxine dont l'ARN messager est porté par l'effecteur principal d'*agr* [67]. En particulier, la disparition du pic correspondant à la delta-toxine en spectrométrie MALDI-ToF a été associée à la chronicité dans une cohorte de patients présentant des IOA à *S. aureus* [68].

4.4. Adaptation bactérienne et antibiothérapie

La catégorisation sensible ou résistante d'une population bactérienne vis-à-vis d'un antibiotique repose habituellement sur des tests *in vitro* qui mesurent une activité bactériostatique sur des bactéries planctoniques. Nous savons cependant que cette activité peut rarement être extrapolée aux bactéries vivant en biofilm, et de façon plus générale aux bactéries dont la croissance est ralentie. De plus, le tissu osseux n'est pas propice à la diffusion des antibiotiques. Les molécules utilisables dans les IOAs, dont le choix peut déjà être réduit du fait de taux de résistance croissants, doivent donc contourner ces écueils et garantir à la fois une bonne diffusion osseuse et une activité bactéricide sur des bactéries à croissance ralentie, éventuellement en position intracellulaire [1]. L'activité des traitements de référence des IOA que sont les bêta-lactamines et les glycopeptides semble donc altérée dans ce contexte. La rifampicine satisfait ces contraintes, à condition d'être associée à une autre molécule bactéricide comme une fluoroquinolone pour prévenir l'apparition de mutants résistants [1]. En particulier, une étude récente sur l'activité de différentes molécules sur les *S. aureus* internalisés par les ostéoblastes *in vitro* et sur l'émergence de SCV indique que l'ofloxacine présente un pouvoir bactéricide élevé dans ce contexte et ne favorise pas l'émergence de SCV [69].

5. Spécificités des IOA à staphylocoques porteurs de la leucocidine de Panton-Valentine

La PVL est une exotoxine protéique présente chez certaines souches de *S. aureus*, initialement décrite en 1894

par Van de Velde qui démontra sa capacité à lyser les leucocytes et la désigna sous le terme de « *substance leukocidin* » [70]. Panton et Valentine ont, en 1932, établi l'association entre cette leucocidine et les infections de la peau et des tissus mous. Par la suite, l'identification des gènes codant pour cette toxine a permis d'établir un lien épidémiologique fort entre les souches *pvl*+ et la survenue de pneumonies nécrosantes, tout d'abord chez des souches de *S. aureus* sensibles à la méthicilline [71, 72], puis chez des souches résistantes d'origine communautaire, les *community-acquired methicillin-resistant S. aureus* (CA-MRSA) [73, 74].

La PVL appartient à la famille des leucocidines à deux composants, ou toxines synergohyménotropes [75]. Ces toxines se composent de deux polypeptides, les composants S (*slow*) et F (*fast*) désignés ainsi sur la base de leur vitesse d'élution en chromatographie à échange d'ions. Les deux composants LukF-PV et LukS-PV de la PVL sont codés par l'opéron *lukPV*, plus communément désigné opéron *pvl*. Cet opéron est porté par différents phages transférables spécifiques de l'espèce *S. aureus* [76-78]. Après sécrétion, le composant LukS-PV se fixe spécifiquement au récepteur du C5a présent à la surface des cellules myéloïdes dont les polynucléaires neutrophiles et les macrophages ; cette liaison récepteur-dépendante explique les spécificités de type cellulaire et d'espèce de la PVL [79]. Après sa liaison avec le C5a-R, LukS-PV se dimérise avec LukF-PV, puis de nouveaux composants se lient séquentiellement au dimère jusqu'à former un assemblage heptamérique en tonneau beta qui réalise un pore traversant la membrane plasmique. En fonction de la concentration appliquée, la PVL peut causer l'activation, l'apoptose ou la lyse des leucocytes. À des concentrations sub-lytiques, la PVL induit chez les polynucléaires neutrophiles la sécrétion d'espèces réactives de l'oxygène et de composés chimiotactiques, aboutissant au final à une exacerbation de la réponse inflammatoire locale et de l'infiltration leucocytaire [80-82]. Cette activité à la fois pro-inflammatoire et leucolytique de la PVL suggère que la nécrose tissulaire et les manifestations systémiques sont médiées indirectement par le recrutement des leucocytes, leur lyse au site de l'infection, le relargage de leur contenu cytotoxique, et enfin la cascade inflammatoire déclenchée et entretenue par ce relargage [70].

Au contraire des formes cliniques d'IOA à *S. aureus* non porteurs de la PVL, volontiers variées et hétérogènes, les IOA à *S. aureus pvl*+ représentent une entité clinique étonnamment homogène. Ces IOA touchent majoritairement les enfants, et la présentation initiale est toujours aiguë [83]. De même que les ostéomyélites staphylococciques de l'enfant, les IOA à *S. aureus pvl*+ sont hématogènes. L'origine de la bactériémie est évidente lorsqu'une infection de la peau et des tissus mous est présente ou a précédé l'IOA, mais cette origine peut ne pas être retrouvée. La métaphyse des os longs est le site le plus fréquemment touché lors des IOA à *S. aureus pvl*+ en pédiatrie : les enfants atteints se présentent le plus souvent avec une ostéomyélite du tibia ou du fémur, ou, plus rarement, avec une arthrite septique du genou, de la hanche ou de l'épaule.

La majorité des IOA à *S. aureus pvl*+ en Europe de l'Ouest dont la France sont le fait de souches sensibles à la méthicilline [4]. Les CA-MRSA, cependant, sont largement majoritaires parmi les souches *pvl*+ d'autres pays dont les Etats-Unis. Cette différence de résistance n'impacte pas la présentation clinique des IOA : les CA-MRSA et les souches *pvl*+ sensibles à la méthicilline sont à l'origine de tableaux très comparables [4]. Les études épidémiologiques menées depuis l'émergence des CA-MRSA ont montré que leur dissémination s'était accompagnée d'une augmentation non seulement d'incidence, mais aussi de sévérité des IOA [11, 83-86]. Les enfants atteints d'IOA à CA-MRSA, par rapport à d'autres fonds génétiques de *S. aureus*, présentent une réponse inflammatoire plus aiguë [87], des durées d'hospitalisation et de fièvre plus élevées [11, 83], et nécessitent plus souvent le recours à la chirurgie [11] et/ou l'admission en soins intensifs [84, 88]. Enfin, les IOA à CA-MRSA sont très souvent grevées de complications musculo-squelettiques voire systémiques comme des abcès sous-périostés ou musculaires, une thrombose veineuse, une fasciite nécrosante ou un choc septique [11, 83, 87, 89]. Il a été proposé, dans certaines pathologies graves liées à la PVL, d'adapter la thérapeutique de façon à inhiber l'action de la toxine par des immunoglobulines polyclonales, ou son expression par des antibiotiques ciblant la synthèse protéique comme la clindamycine [90, 91]. Bien qu'il soit envisageable que de telles approches anti-toxiniques puissent apporter un bénéfice clinique chez les patients atteints d'IOA liées à la PVL, le manque de données cliniques ne permet pas à ce jour de conclure à leur efficacité.

6. Conclusion

D'importantes avancées scientifiques dans la dernière décennie ont permis d'améliorer significativement notre compréhension des IOA staphylococciques. Cependant, ces améliorations ne sont pas encore traduites en succès thérapeutiques. Les mécanismes d'adaptation à l'infection chronique tels que la perte de fonction *agr* ou l'émergence de SCV, détectables en laboratoire, pourraient présenter un potentiel pronostique en permettant de prédire, à partir de paramètres microbiologiques, le caractère chronique de l'infection et d'adapter l'attitude thérapeutique [68]. D'autre part, la compréhension des mécanismes à l'œuvre dans la perte de tissu osseux et la déminéralisation permettent d'envisager le développement de thérapeutiques ciblées visant à enrayer ces phénomènes [46]. Enfin, la reconnaissance des entités cliniques d'IOA liées à la sécrétion de PVL encourage l'évaluation de schémas thérapeutiques à action anti-toxinique qui pourraient limiter les risques d'abcédation extra-osseuse et de déformation osseuse. Il est cependant important de rappeler que ces avancées potentielles restent toutes, à ce jour, au stade d'hypothèse, et que seule la réalisation d'études cliniques interventionnelles permettra à terme de déterminer quelles approches thérapeutiques sont susceptibles d'apporter un bénéfice clinique.

Conflits d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts avec le contenu de cet article

Références

- [1] Lew DP, Waldvogel FA. Osteomyelitis. *Lancet* 2004; 364:369-79
- [2] Ellington JK, Harris M, Hudson MC, Vishin S, Webb LX, Sherertz R. Intracellular *Staphylococcus aureus* and antibiotic resistance: implications for treatment of staphylococcal osteomyelitis. *J Orthop Res* 2006; 24:87-93
- [3] von Eiff C, Peters G, Becker K. The small colony variant (SCV) concept -- the role of staphylococcal SCVs in persistent infections. *Injury* 2006; 37 Suppl 2:S26-33
- [4] Dohin B, Gillet Y, Kohler R, et al. Pediatric bone and joint infections caused by Panton-Valentine leukocidin-positive *Staphylococcus aureus*. *Pediatr Infect Dis J* 2007; 26:1042-8
- [5] Goldenberg DL. Septic arthritis. *Lancet* 1998; 351:197-202
- [6] Ciampolini J, Harding KG. Pathophysiology of chronic bacterial osteomyelitis. Why do antibiotics fail so often? *Postgrad Med J* 2000; 76:479-83
- [7] Grammatico-Guillon L, Baron S, Gettner S, et al. Bone and joint infections in hospitalized patients in France, 2008: clinical and economic outcomes. *J Hosp Infect* 2012; 82:40-8
- [8] Al Arfaj AS. A prospective study of the incidence and characteristics of septic arthritis in a teaching hospital in Riyadh, Saudi Arabia. *Clin Rheumatol* 2008; 27:1403-10
- [9] Dubost JJ, Soubrier M, De Champs C, Ristori JM, Bussiere JL, Sauvezie B. No changes in the distribution of organisms responsible for septic arthritis over a 20 year period. *Ann Rheum Dis* 2002; 61:267-9
- [10] Ryan MJ, Kavanagh R, Wall PG, Hazleman BL. Bacterial joint infections in England and Wales: analysis of bacterial isolates over a four year period. *Br J Rheumatol* 1997; 36:370-3
- [11] Arnold SR, Elias D, Buckingham SC, et al. Changing patterns of acute hematogenous osteomyelitis and septic arthritis: emergence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Pediatr Orthop* 2006; 26:703-8
- [12] Blyth MJ, Kincaid R, Craigen MA, Bennet GC. The changing epidemiology of acute and subacute haematogenous osteomyelitis in children. *J Bone Joint Surg Br* 2001; 83:99-102
- [13] Grammatico L, Baron S, Rusch E, et al. Epidemiology of vertebral osteomyelitis (VO) in France: analysis of hospital-discharge data 2002-2003. *Epidemiol Infect* 2008; 136:653-60
- [14] Karwowska A, Davies HD, Jadavji T. Epidemiology and outcome of osteomyelitis in the era of sequential intravenous-oral therapy. *Pediatr Infect Dis J* 1998; 17:1021-6
- [15] U.K. Health Protection Agency. Surgical Site Infection - National aggregated data on Surgical Site Infections for hospitals that have participated in Surgical Site Infection Surveillance Scheme (SSISS) between October 1997 and December 2005. <http://www.hpa.org.uk/HPA/Topics/InfectiousDiseases/InfectionsAZ/1202115536296/>. 2008;
- [16] Greig JM, Wood MJ. *Staphylococcus lugdunensis* vertebral osteomyelitis. *Clin Microbiol Infect* 2003; 9:1139-41
- [17] Lang S, Livesley MA, Lambert PA, Elliott J, Elliott TS. The genomic diversity of coagulase-negative staphylococci associated with nosocomial infections. *J Hosp Infect* 1999; 43:187-93
- [18] Murdoch DR, Everts RJ, Chambers ST, Cowan IA. Vertebral osteomyelitis due to *Staphylococcus lugdunensis*. *J Clin Microbiol* 1996; 34:993-4
- [19] Vallianou N, Evangelopoulos A, Makri P, et al. Vertebral osteomyelitis and native valve endocarditis due to *Staphylococcus simulans*: a case report. *J Med Case Rep* 2008; 2:183
- [20] Cassat JE, Hammer ND, Campbell JP, et al. A secreted bacterial protease tailors the *Staphylococcus aureus* virulence repertoire to modulate bone remodeling during osteomyelitis. *Cell Host Microbe* 2013; 13:759-72
- [21] Vaananen HK, Laitala-Leinonen T. Osteoclast lineage and function. *Arch Biochem Biophys* 2008; 473:132-8
- [22] Blair HC. How the osteoclast degrades bone. *Bioessays* 1998; 20:837-46
- [23] Mackie EJ. Osteoblasts: novel roles in orchestration of skeletal architecture. *Int J Biochem Cell Biol* 2003; 35:1301-5
- [24] Blair HC, Teitelbaum SL, Ghiselli R, Gluck S. Osteoclastic bone resorption by a polarized vacuolar proton pump. *Science* 1989; 245:855-7
- [25] Kornak U, Kasper D, Bosl MR, et al. Loss of the CIC-7 chloride channel leads to osteopetrosis in mice and man. *Cell* 2001; 104:205-15
- [26] Bossard MJ, Tomaszek TA, Thompson SK, et al. Proteolytic activity of human osteoclast cathepsin K. Expression, purification, activation, and substrate identification. *J Biol Chem* 1996; 271:12517-24
- [27] Drake FH, Dodds RA, James IE, et al. Cathepsin K, but not cathepsins B, L, or S, is abundantly expressed in human osteoclasts. *J Biol Chem* 1996; 271:12511-6
- [28] Henderson B, Nair SP. Hard labour: bacterial infection of the skeleton. *Trends Microbiol* 2003; 11:570-7
- [29] Kwan Tat S, Padrines M, Theoleyre S, Heymann D, Fortun Y. IL-6, RANKL, TNF-alpha/IL-1: interrelations in bone resorption pathophysiology. *Cytokine Growth Factor Rev* 2004; 15:49-60
- [30] Evans CA, Jellis J, Hughes SP, Remick DG, Friedland JS. Tumor necrosis factor-alpha, interleukin-6, and interleukin-8 secretion and the acute-phase response in patients with bacterial and tuberculous osteomyelitis. *J Infect Dis* 1998; 177:1582-7
- [31] Klosterhalfen B, Peters KM, Tons C, Hauptmann S, Klein CL, Kirkpatrick CJ. Local and systemic inflammatory mediator release in patients with acute and chronic posttraumatic osteomyelitis. *J Trauma* 1996; 40:372-8
- [32] Osiri M, Ruxrungtham K, Nookhai S, Ohmoto Y, Deesomchok U. IL-1beta, IL-6 and TNF-alpha in synovial fluid of patients with non-gonococcal septic arthritis. *Asian Pac J Allergy Immunol* 1998; 16:155-60
- [33] Saez-Llorens X, Mustafa MM, Ramilo O, Fink C, Beutler B, Nelson JD. Tumor necrosis factor alpha and interleukin 1 beta in synovial fluid of infants and children with suppurative arthritis. *Am J Dis Child* 1990; 144:353-6
- [34] Bost KL, Ramp WK, Nicholson NC, Bento JL, Marriott I, Hudson MC. *Staphylococcus aureus* infection of mouse or human osteoblasts induces high levels of interleukin-6 and interleukin-12 production. *J Infect Dis* 1999; 180:1912-20
- [35] Ishimi Y, Miyaura C, Jin CH, et al. IL-6 is produced by osteoblasts and induces bone resorption. *J Immunol* 1990; 145:3297-303
- [36] Marriott I, Hughes FM, Jr., Bost KL. Bacterial infection of osteoblasts induces interleukin-1beta and interleukin-18 transcription but not protein synthesis. *J Interferon Cytokine Res* 2002; 22:1049-55
- [37] Mundy GR. Inflammatory mediators and the destruction of bone. *J Periodontol Res* 1991; 26:213-7
- [38] Robinson LJ, Borysenko CW, Blair HC. Tumor necrosis factor family receptors regulating bone turnover: new observations in osteoblastic and osteoclastic cell lines. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1116:432-43
- [39] Pfeilschifter J, Chenu C, Bird A, Mundy GR, Roodman GD. Interleukin-1 and tumor necrosis factor stimulate the formation of human osteoclastlike cells in vitro. *J Bone Miner Res* 1989; 4:113-8
- [40] Tokukoda Y, Takata S, Kaji H, Kitazawa R, Sugimoto T, Chihara K. Interleukin-1beta stimulates transendothelial mobilization of human peripheral blood mononuclear cells with a potential to differentiate into osteoclasts in the presence of osteoblasts. *Endocr J* 2001; 48:443-52
- [41] Azuma Y, Kaji K, Katogi R, Takeshita S, Kudo A. Tumor necrosis factor-alpha induces differentiation of and bone resorption by osteoclasts. *J Biol Chem* 2000; 275:4858-64
- [42] Taubman MA, Kawai T. Involvement of T-lymphocytes in periodontal disease and in direct and indirect induction of bone resorption. *Crit Rev Oral Biol Med* 2001; 12:125-35
- [43] Thomson BM, Mundy GR, Chambers TJ. Tumor necrosis factors alpha and beta induce osteoblastic cells to stimulate osteoclastic bone resorption. *J Immunol* 1987; 138:775-9
- [44] Kotake S, Sato K, Kim KJ, et al. Interleukin-6 and soluble interleukin-6 receptors in the synovial fluids from rheumatoid arthritis patients are responsible for osteoclast-like cell formation. *J Bone Miner Res* 1996; 11:88-95
- [45] Lacey DC, Simmons PJ, Graves SE, Hamilton JA. Proinflammatory cytokines inhibit osteogenic differentiation from stem cells: implications for bone repair during inflammation. *Osteoarthritis Cartilage* 2009; 17:735-42
- [46] Trouillet-Assant S, Gallet M, Nauroy P, et al. Dual impact of live *Staphylococcus aureus* on the osteoclast lineage, leading to increased bone resorption. *J Infect Dis* 2015; 211:571-81
- [47] Claro T, Widaa A, O'Seaghdha M, et al. *Staphylococcus aureus* protein A binds to osteoblasts and triggers signals that weaken bone in osteomyelitis. *PLoS One* 2011; 6:e18748

- [48] Fiedler T, Salamon A, Adam S, Herzmann N, Taubenheim J, Peters K. Impact of bacteria and bacterial components on osteogenic and adipogenic differentiation of adipose-derived mesenchymal stem cells. *Exp Cell Res* 2013; 319:2883-92
- [49] Garzoni C, Kelley WL. *Staphylococcus aureus*: new evidence for intracellular persistence. *Trends Microbiol* 2009; 17:59-65
- [50] Kintarak S, Whawell SA, Speight PM, Packer S, Nair SP. Internalization of *Staphylococcus aureus* by human keratinocytes. *Infect Immun* 2004; 72:5668-75
- [51] Ellington JK, Reilly SS, Ramp WK, Smeltzer MS, Kellam JF, Hudson MC. Mechanisms of *Staphylococcus aureus* invasion of cultured osteoblasts. *Microb Pathog* 1999; 26:317-23
- [52] Hudson MC, Ramp WK, Nicholson NC, Williams AS, Nousiainen MT. Internalization of *Staphylococcus aureus* by cultured osteoblasts. *Microb Pathog* 1995; 19:409-19
- [53] Jevon M, Guo C, Ma B, et al. Mechanisms of internalization of *Staphylococcus aureus* by cultured human osteoblasts. *Infect Immun* 1999; 67:2677-81
- [54] Reilly SS, Hudson MC, Kellam JF, Ramp WK. *In vivo* internalization of *Staphylococcus aureus* by embryonic chick osteoblasts. *Bone* 2000; 26:63-70
- [55] Hamza T, Dietz M, Pham D, Clovis N, Danley S, Li B. Intra-cellular *Staphylococcus aureus* alone causes infection in vivo. *Eur Cell Mater* 2013; 25:341-50; discussion 50
- [56] Bosse MJ, Gruber HE, Ramp WK. Internalization of bacteria by osteoblasts in a patient with recurrent, long-term osteomyelitis. A case report. *J Bone Joint Surg Am* 2005; 87:1343-7
- [57] Ellington JK, Harris M, Webb L, et al. Intracellular *Staphylococcus aureus*. A mechanism for the indolence of osteomyelitis. *J Bone Joint Surg Br* 2003; 85:918-21
- [58] Rohde H, Burandt EC, Siemssen N, et al. Polysaccharide intercellular adhesion or protein factors in biofilm accumulation of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* isolated from prosthetic hip and knee joint infections. *Biomaterials* 2007; 28:1711-20
- [59] Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol* 1995; 49: 711-45
- [60] Periasamy S, Joo HS, Duong AC, et al. How *Staphylococcus aureus* biofilms develop their characteristic structure. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109:1281-6
- [61] Periasamy S, Chatterjee SS, Cheung GY, Otto M. Phenol-soluble modulins in staphylococci: What are they originally for? *Commun Integr Biol* 2012; 5:275-7
- [62] Le KY, Dastgheib S, Ho TV, Otto M. Molecular determinants of staphylococcal biofilm dispersal and structuring. *Front Cell Infect Microbiol* 2014; 4:167
- [63] Xu KD, McFeters GA, Stewart PS. Biofilm resistance to antimicrobial agents. *Microbiology* 2000; 146 (Pt 3):547-9
- [64] Schwank S, Rajacic Z, Zimmerli W, Blaser J. Impact of bacterial biofilm formation on *in vitro* and *in vivo* activities of antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42:895-8
- [65] Monzon M, Oteiza C, Leiva J, Lamata M, Amorena B. Biofilm testing of *Staphylococcus epidermidis* clinical isolates: low performance of vancomycin in relation to other antibiotics. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002; 44:319-24
- [66] Tuchscher L, Heitmann V, Hussain M, et al. *Staphylococcus aureus* small-colony variants are adapted phenotypes for intracellular persistence. *J Infect Dis* 2010; 202:1031-40
- [67] Gagnaire J, Dauwalder O, Boisset S, et al. Detection of *Staphylococcus aureus* Delta-Toxin Production by Whole-Cell MALDI-TOF Mass Spectrometry. *PLoS One* 2012; 7:e40660
- [68] Valour F, Rasigade JP, Trouillet-Assant S, et al. Delta-toxin production deficiency in *Staphylococcus aureus*: a diagnostic marker of bone and joint infection chronicity linked with osteoblast invasion and biofilm formation. *Clin Microbiol Infect* 2015; 21:568 e1- e11
- [69] Valour F, Trouillet-Assant S, Riffard N, et al. Antimicrobial activity against intraosteoblastic *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2015; 59:2029-36
- [70] Boyle-Vavra S, Daum RS. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: the role of Panton-Valentine leukocidin. *Lab Invest* 2007; 87:3-9
- [71] Lina G, Piemont Y, Godail-Gamot F, et al. Involvement of Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *Clin Infect Dis* 1999; 29:1128-32
- [72] Gillet Y, Issartel B, Vanhems P, et al. Association between *Staphylococcus aureus* strains carrying gene for Panton-Valentine leukocidin and highly lethal necrotising pneumonia in young immunocompetent patients. *Lancet* 2002; 359:753-9
- [73] Vandenesch F, Naimi T, Enright MC, et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Panton-Valentine leukocidin genes: worldwide emergence. *Emerg Infect Dis* 2003; 9:978-84
- [74] Tristan A, Ferry T, Durand G, et al. Virulence determinants in community and hospital methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Hosp Infect* 2007; 65 Suppl 2:105-9
- [75] Kaneko J, Kamio Y. Bacterial two-component and hetero-heptameric pore-forming cytolytic toxins: structures, pore-forming mechanism, and organization of the genes. *Biosci Biotechnol Biochem* 2004; 68:981-1003
- [76] Diep BA, Gill SR, Chang RF, et al. Complete genome sequence of USA300, an epidemic clone of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet* 2006; 367:731-9
- [77] Szmigielski S, Prevost G, Monteil H, Colin DA, Jeljaszewicz J. Leukocidal toxins of staphylococci. *Zentralbl Bakteriol* 1999; 289:185-201
- [78] Ma XX, Ito T, Chongtrakool P, Hiramatsu K. Predominance of clones carrying Panton-Valentine leukocidin genes among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated in Japanese hospitals from 1979 to 1985. *J Clin Microbiol* 2006; 44:4515-27
- [79] Spaan AN, Henry T, van Rooijen WJ, et al. The staphylococcal toxin Panton-Valentine Leukocidin targets human C5a receptors. *Cell Host Microbe* 2013; 13:584-94
- [80] König B, Koller M, Prevost G, et al. Activation of human effector cells by different bacterial toxins (leukocidin, alveolysin, and erythrogenic toxin A): generation of interleukin-8. *Infect Immun* 1994; 62:4831-7
- [81] König B, Prevost G, Piemont Y, König W. Effects of *Staphylococcus aureus* leukocidins on inflammatory mediator release from human granulocytes. *J Infect Dis* 1995; 171:607-13
- [82] Colin DA, Monteil H. Control of the oxidative burst of human neutrophils by staphylococcal leukotoxins. *Infect Immun* 2003; 71:3724-9
- [83] Martinez-Aguilar G, Avalos-Mishaan A, Hulten K, Hammerman W, Mason EO, Jr., Kaplan SL. Community-acquired, methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* musculoskeletal infections in children. *Pediatr Infect Dis J* 2004; 23:701-6
- [84] Gonzalez BE, Martinez-Aguilar G, Hulten KG, et al. Severe staphylococcal sepsis in adolescents in the era of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Pediatrics* 2005; 115:642-8
- [85] Gwynne-Jones DP, Stott NS. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a cause of musculoskeletal sepsis in children. *J Pediatr Orthop* 1999; 19:413-6
- [86] Gerber JS, Coffin SE, Smathers SA, Zaoutis TE. Trends in the incidence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in children's hospitals in the United States. *Clin Infect Dis* 2009; 49:65-71
- [87] Bocchini CE, Hulten KG, Mason EO, Jr., Gonzalez BE, Hammerman WA, Kaplan SL. Panton-Valentine leukocidin genes are associated with enhanced inflammatory response and local disease in acute hematogenous *Staphylococcus aureus* osteomyelitis in children. *Pediatrics* 2006; 117:433-40
- [88] Vander Have KL, Karmazyn B, Verma M, et al. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in acute musculoskeletal infection in children: a game changer. *J Pediatr Orthop* 2009; 29:927-31
- [89] Gonzalez BE, Teruya J, Mahoney DH, Jr., et al. Venous thrombosis associated with staphylococcal osteomyelitis in children. *Pediatrics* 2006; 117:1673-9
- [90] Rouzic N, Janvier F, Libert N, et al. Prompt and successful toxin-targeting treatment of three patients with necrotizing pneumonia due to *Staphylococcus aureus* strains carrying the Panton-Valentine leukocidin genes. *J Clin Microbiol* 2010; 48:1952-5
- [91] Morgan MS. Diagnosis and treatment of Panton-Valentine leukocidin (PVL)-associated staphylococcal pneumonia. *Int J Antimicrob Agents* 2007; 30:289-96

Infections ostéo-articulaires à bacilles à Gram négatif

Lise Crémet^{a,b}, Stéphane Corvec^{a,b,*}

RÉSUMÉ

Les infections ostéo-articulaires à bacilles à Gram négatif (BGN) se répartissent au sein des différentes entités cliniques orthopédiques. Chez les enfants, elles se présentent généralement sous forme d'arthrite, notamment à *Kingella kingae*, désormais de diagnostic plus aisé avec la mise en culture du liquide articulaire en flacon d'hémoculture et par le développement de PCR spécifique. Chez les adultes, avec l'allongement de la durée de la vie, le risque d'infecter une prothèse s'accroît. Dans ce contexte, les infections à BGN (15-20 % des infections) sont décrites d'une part, lors de la pose ou peu de temps après (infection précoce) ou très longtemps après (infection hématogène tardive) et, d'autre part, lors d'infection sur matériel après fracture ouverte. L'épidémiologie est un peu différente en fonction du contexte. *Escherichia coli* et, dans une moindre mesure, *Pseudomonas aeruginosa*, restent des acteurs privilégiés. Le diagnostic conduit selon les dernières recommandations nationales ne pose généralement pas de problème particulier. La stratégie chirurgicale et les schémas antibiotiques sont bien codifiés avec maintien du matériel en place et initiation d'une bithérapie comprenant une fluoroquinolone, antibiotique pivot des infections à BGN. De nouvelles études s'avèrent nécessaires pour mieux comprendre et identifier les facteurs de virulence bactériens impliqués dans la physiopathologie de ces infections.

Infections ostéo-articulaires – arthrite – infection prothétique – *Kingella kingae* – *Escherichia coli*.

1. Introduction

Les situations cliniques dans lesquelles une infection ostéo-articulaire (IOA) à bacille à Gram négatif peut être diagnostiquée sont très diverses (arthrites, ostéomyélites, infections sur prothèse, infections post-traumatiques...). Une diversité d'espèces bactériennes est rencontrée (entérobactéries, bacille pyocyanique, bactéries du groupe HACEK, bacilles à Gram négatif anaérobies), généralement dans des situations cliniques spécifiques (cf. article « Épidémiologie et physiopathologie générale des infections ostéo-articulaires », dans ce même numéro) [1,2]. Globalement, ces infections

^a Institut de Biologie des Hôpitaux de Nantes, Service de Bactériologie-Hygiène hospitalière, CHU de Nantes

9 quai Moncousu - 44093 Nantes Cedex 01

^b Université de Nantes, EA3826 Thérapeutiques cliniques et expérimentales des infections, Faculté de Médecine de Nantes, Nantes, France

*Correspondance :

stephane.corvec@chu-nantes.fr

SUMMARY

Gram-negative bacilli bone and joint infections

Gram negative bacilli (BGN) bone and joint infections fall within different orthopedic clinical entities. In children, they are usually found during arthritis, especially with *Kingella kingae*. Now, the diagnosis is easier and improved with the introduction of joint fluid into blood culture bottle and the development of specific PCR. Concerning adults, with the lengthening of the lifetime, the risk of infecting prosthesis increases. In this context, Gram negative bacilli (BGN) bone and joint infections are described first, during implantation or shortly after (early infection) or a long time after hematogenous infection, but also after open fracture. Epidemiology is a little different (15 to 20 % of bone and joint infections). *Escherichia coli* and to a lesser extent, *Pseudomonas aeruginosa*, remain key players. The diagnosis meets the latest national guidelines and generally constitutes no particular problem. The surgical strategy and antibiotics regimens are well codified with prosthesis retention and combination therapy with a fluoroquinolone, the key antibiotic during Gram negative bacilli (BGN) bone and joint infections. Further studies are needed to better understand and identify bacterial virulence factors involved in the pathophysiology of such sepsis.

Bone and joint infections – arthritis – prosthetic infection – *Kingella kingae* – *Escherichia coli*.

gagnent en importance, particulièrement aux âges extrêmes de la vie. En effet, chez le jeune enfant de 6 à 48 mois, *Kingella kingae* est devenue la première cause d'arthrites septiques et d'ostéomyélites, devant *Staphylococcus aureus*. Le développement de techniques de PCR en temps réel à large spectre (ADNr 16S) ou des PCR ciblées (gène *cpn60* codant pour la protéine chaperon 60 ou gènes *rtxA* et *rtxB* codant pour la toxine RTX) a considérablement amélioré le diagnostic de ces infections à *K. kingae* [3-6]. Ainsi, une récente étude prospective française a mis en évidence chez 83 enfants de moins de 15 ans présentant une IOA bactériologiquement documentée, 24 cas (29 %) d'infections à *S. aureus* contre 44 cas (53 %) d'infections à *K. kingae* dont 39/44 (88,6 %) diagnostiquées uniquement par PCR [3]. Par ailleurs, le nombre de personnes porteuses d'implants articulaires a fortement augmenté, avec en parallèle, une augmentation des complications. Les IOA sur matériel à bacilles à Gram négatif, qui représentent 10 à 23 % des IOA sur matériel, concernent généralement des patients âgés (médiane d'âge d'environ 70 ans) présentant plusieurs facteurs de co-morbidité (obésité, diabète sucré, polyarthrite rhumatoïde, arthrose, immunosuppression,...) [1,2,7-9].

article reçu le 12 août, accepté le 10 septembre 2015

© 2016 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

Malgré des progrès considérables dans la prévention des risques de complications en chirurgie orthopédique prothétique, l'incidence des IOA sur matériel à bacilles à Gram négatif devrait progresser ces prochaines années, compte tenu du vieillissement de la population et de l'augmentation du nombre d'arthroplasties chez les personnes âgées [2]. La prothèse articulaire constitue actuellement le traitement le plus efficace de l'arthrose, mais est associée à un risque d'infection à vie.

2. Épidémiologie

2.1. *Kingella kingae*

K. kingae est un cocco-bacille à Gram négatif oxydatif du groupe HACEK, de croissance lente et nécessitant pour sa culture un milieu enrichi (l'inoculation des liquides articulaires dans des flacons d'hémoculture est fortement recommandée pour le diagnostic, puis isolement sur gélose au sang et/ou chocolat PolyViteX). Il s'agit d'une bactérie commensale de l'oro-pharynx des enfants de moins de 4 ans, récemment reconnue comme principal pathogène responsable d'IOA (arthrites septiques, ostéomyélites) dans ce groupe d'âge. Au-delà de 4 ans, la réponse immunitaire vis-à-vis des antigènes polysidiques capsulaires de *K. kingae* est efficace, réduisant considérablement le portage et le risque d'infections invasives. Les IOA représentent la majorité des infections invasives à *K. kingae* [6]. Le typage par MLST (Multi-Locus Sequence Typing) de souches de *K. kingae*, d'origines diverses, a révélé une hétérogénéité génétique notable au sein de cette espèce. En 2014, 12 complexes clonaux étaient identifiés parmi 324 souches analysées, mais un nombre limité de lignées clonales (ST-14, ST-25 et ST-35) était associé à des IOA [10]. Ces IOA seraient la conséquence d'une dissémination par voie sanguine de la bactérie, suite à une effraction de la muqueuse oro-pharyngée. Les infections virales (virus respiratoires, *Herpesviridae*,...), en altérant l'épithélium respiratoire, favoriseraient cette translocation. Par ailleurs, plusieurs facteurs de virulence bactériens seraient impliqués dans la pathogenèse des IOA à *K. kingae*. Ainsi, la protéine RtxA de la classe des toxines à motif RTX (Repeat in Toxin), en agissant par formation de pores au sein de la membrane cytoplasmique de différentes cellules cibles (érythrocytes, macrophages, leucocytes ou synoviocytes), permettrait à *K. kingae* de survivre dans la circulation sanguine, et d'envahir le tissu squelettique [6,11]. Cette cytotoxine sécrétée sous forme soluble ou au sein de vésicules de membrane externe internalisées par les ostéoblastes et les synoviocytes, est produite par toutes les souches de *K. kingae*, mais absente chez d'autres espèces moins virulentes (*Kingella denitrificans* et *Kingella oralis*) [6,12]. D'autres facteurs membranaires, comme des pili de type IV, pourraient jouer un rôle dans l'adhérence de *K. kingae* à l'épithélium respiratoire, aux cellules synoviales ou lors des étapes précoces de colonisation/infection. Toutefois, seule une faible proportion de souches isolées d'IOA exprime ces pili, suggérant que ce facteur de virulence pourrait être délétère aux étapes plus tardives du processus infectieux [6,13].

2.2. *Escherichia coli*

E. coli est une entérobactérie au double visage, à la fois espèce commensale la plus importante de la flore aérobie digestive de l'Homme, mais aussi premier agent responsable d'infections communautaires et nosocomiales (infections urinaires, bactériémies, péritonites, pneumopathies acquises sous ventilation...). Les souches responsables d'infections intestinales (InPEC) ou de pathologies extra-intestinales (ExPEC) possèdent jusqu'à 20 % d'information génétique supplémentaire, acquise par le biais d'échanges génétiques horizontaux [facteurs de virulence, de survie, ou de compétition portés par des plasmides, des transposons, des bactériophages, ou des îlots de pathogénicité (PAI)] [14,15]. Généralement, *E. coli* est le bacille à Gram négatif le plus fréquemment isolé d'infection sur prothèse ostéo-articulaire [1,8]. En principe, cette entérobactérie fréquente en microbiologie humaine est responsable d'une part, d'infections précoces (contamination de contiguïté), et, d'autre part, d'infections tardives d'origine hématogène (cf. articles « Épidémiologie et physiopathologie générale des infections ostéo-articulaires », et « Diagnostic des infections ostéo-articulaires » dans ce même numéro). Les souches isolées dans ce contexte ne présentent pas de profil de virulence spécifique, mais pourraient être, à l'origine, responsables d'infections urinaires. En effet, une grande partie d'entre elles portent des gènes de virulence habituellement réunis au sein d'îlots de pathogénicité largement distribués chez les *E. coli* uropathogènes ou UPEC (PAI II536 en particulier) [fimbriae de type P ou S/F1C (gènes *papGII*, *papGIII*, et *sfa/foc*), adhésine non fimbriale (gène *hlyA*), cytotoxines (gènes *cnf1* et *hlyA*)] [9]. Par ailleurs, des antécédents urologiques ayant pu favoriser la survenue secondaire d'une IOA sur matériel, sont généralement observés chez ces patients (insuffisance rénale, infections urinaires à répétition ou examen cyto-bactériologique des urines positif au moment de la pose de prothèse ou d'un matériel) [9]. Parmi les facteurs de virulence communément exprimés par les UPEC, l'alpha-hémolysine HlyA pourrait jouer un rôle majeur dans la pathogenèse des IOA à *E. coli*. Les récents travaux de notre groupe ont mis en évidence l'importante activité cytolytique de cette toxine vis-à-vis de cellules ostéoblastiques MG-63 ou de cellules souches mésenchymateuses humaines (données personnelles). Cette cytotoxine appartient à la même classe de toxines que la protéine RtxA de *K. kingae*, ou les PSMs de type α de *S. aureus* (seules «pore-forming toxins» de *S. aureus* caractérisées comme capables de lyser les ostéoblastes) [11,16,17]. HlyA présente un spectre d'action très large (cellules urothéliales, érythrocytes, polynucléaires neutrophiles, ostéoblastes...), indépendant de l'internalisation des bactéries, et pourrait provoquer d'importants dommages tissulaires [18].

2.3 Autres Entérobactéries

Si la fréquence d'infection est nettement moindre, d'autres entérobactéries que *E. coli* (*Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*...) peuvent être isolées d'IOA (arthrites septiques, ostéomyélites, ou IOA sur matériel) [1,2]. Très peu d'études se sont intéressées au pouvoir pathogène de ces entérobactéries, dans ce

contexte [19]. Ainsi, en dehors des infections sur fracture ouverte, les entérobactéries du complexe *E. cloacae* ne sont pas toutes détectées à la même fréquence. La seule étude concernant ce complexe a montré une différence de distribution des espèces impliquées avec une prédominance de *Enterobacter hormaechei* (clusters VI et VIII), notamment dans les infections de hanche [19]. Des études complémentaires sur les facteurs de virulence, éventuellement impliqués, dans ce contexte d'infections, sont nécessaires pour mieux en comprendre la physiopathologie. Enfin, quelques travaux récents ont souligné le caractère potentiellement incurable d'IOA causées par des entérobactéries multi-résistantes aux antibiotiques, parfois productrices de carbapénémases [2,20].

2.4. *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa est un bacille à Gram négatif pathogène opportuniste, avant tout présent dans l'environnement (sols et milieux humides), mais fréquent en milieu hospitalier. Cette espèce possède habituellement un imposant arsenal de facteurs de virulence impliqués dans la colonisation de l'hôte et dans des destructions tissulaires (flagelle, pili de type IV ou de type *fimbriae*, systèmes de captation du fer, systèmes de sécrétion, toxines, protéases...). L'expression coordonnée d'un grand nombre de ces gènes de virulence est sous le contrôle de mécanismes régulateurs dépendant de l'environnement (systèmes à deux composants et Quorum Sensing) [21-22]. Cette espèce est, avec *E. coli*, un agent étiologique majeur d'IOA sur matériel à bacilles à Gram négatif. Cette bactérie saprophyte de l'environnement est particulièrement responsable d'infections post-traumatiques (fractures ouvertes) sur matériel d'ostéosynthèse (plaque, clou, vis, tige...), et est parfois associée à des échecs de traitement, du fait d'une résistance (naturelle et/ou acquise) à de nombreux antibiotiques, et d'un mode de vie communautaire associé à la formation de biofilms [22-25]. Très peu d'études scientifiques se sont intéressées à la physiopathologie des IOA à *P. aeruginosa* et les mécanismes de virulence de cette bactérie, dans ce contexte, nécessitent d'être explorés.

2.5 Bacilles à Gram négatif anaérobies

15 à 25 % des IOA sur matériel sont polymicrobiennes, et peuvent impliquer des bactéries anaérobies [26-28]. Les bacilles à Gram négatif anaérobies potentiellement isolés dans ce cadre, appartiennent aux genres *Bacteroides* ou *Prevotella*. Ces bactéries de la microflore intestinale sont généralement associées à d'autres espèces naturellement présentes dans l'intestin (entérobactéries, entérocoques, ou autres bactéries anaérobies). Ces infections polymicrobiennes, impliquant des bacilles à Gram négatif, peuvent être également rencontrées lors de chirurgie tumorale (exemple de prothèse massive ou ostéosarcome du bassin).

3. Présentations cliniques

3.1. IOA à *K. kingae*

Les IOA à *K. kingae* se manifestent sous forme d'arthrites septiques dans 80 % des cas, voire plus rarement sous

forme d'ostéomyélite ou de spondylodiscites. Dans les cas d'arthrites septiques, les principales articulations atteintes sont le genou, la cheville ou la hanche. Ces infections ne déclenchent généralement pas de réponse inflammatoire systémique, et les symptômes sont souvent plus frustrés que ceux observés dans le cadre d'arthrites à *S. aureus* ou streptocoques [6]. Les performances du diagnostic microbiologique se sont améliorées avec l'introduction des liquides articulaires directement dans les flacons d'hémocultures au bloc opératoire, ainsi que le développement de PCR spécifiques (cf. article « Diagnostic des infections ostéo-articulaires » dans ce même numéro).

3.2. IOA sur matériel à bacilles à Gram négatif

Les IOA sur matériel sont généralement classées en fonction du mode supposé d'inoculation (contamination per-, post-opératoire ou hématogène) et du délai entre l'apparition des signes d'infection et la date de la mise en place chirurgicale du matériel (survenue précoce, retardée ou tardive) [29,30]. Les infections polymicrobiennes impliquant des bacilles à Gram négatif sont généralement d'apparition précoce, témoignant d'une contamination per-ou post-opératoire [9,31]. La part des bacilles à Gram négatif, et en particulier de *E. coli*, lors d'infections tardives hématogènes est importante, bien que *P. aeruginosa* n'apparaisse pas être un acteur important dans ce contexte [32,33]. Les IOA sur matériel à bacilles à Gram négatif se manifestent le plus souvent sous forme aiguë, témoignant du fort potentiel pathogène de ces bactéries [7,9]. À noter que de rares infections prothétiques chroniques à *E. coli*, sans tableau clinico-biologique particulièrement sévère, associées à l'isolement de Small-Colony Variants (SCV) de *E. coli* adaptés à la vie en biofilm comme pour *S. aureus* (cf. article « Infections ostéo-articulaires à staphylocoque » dans ce même numéro), ont été rapportées [34]. Néanmoins, nos récents travaux ont souligné le faible potentiel biofilmogène de souches cliniques de *E. coli* isolées dans ce contexte [9].

4. Traitement

4.1. Prise en charge chirurgicale

Si la prise en charge des IOA à *K. kingae* ne nécessite généralement pas de drainage et/ou lavage chirurgical de l'articulation, celle des IOA sur matériel à bacilles à Gram négatif est plus complexe, sur le plan chirurgical et médical [6]. Il n'existe pas de recommandations chirurgicales spécifiques dans le cadre d'infections sur matériel à bacilles à Gram négatif ; cependant, plusieurs études cliniques apportent des éléments de réponse pour le choix des procédures chirurgicales ou des traitements antibiotiques [1,25,31]. Ainsi, l'intérêt d'un traitement conservateur où le matériel est laissé en place, a été confirmé très récemment par différentes équipes [1,25]. Dans le cadre d'une infection précoce ou d'un sepsis hématogène, il implique un parage chirurgical méticuleux de tous les tissus macroscopiquement suspects, ainsi

qu'un lavage abondant et soigneux du site opératoire, avec changement des parties mobiles. Ce type de traitement chirurgical, moins invasif que le changement de prothèse en un ou deux temps, ou la dépose définitive de prothèse, se prête assez bien aux infections à bacilles à Gram négatif, qui surviennent le plus souvent sous forme aiguë. Cependant, ce traitement pourrait être moins efficace en cas d'infection tardive à *P. aeruginosa*, du fait d'une éventuelle formation de biofilm à la surface de l'implant [1,25,35].

4.2 Traitement antibiotique

4.2.1 IOA à *K. kingae*

Bien qu'aucune recommandation n'existe quant à la prise en charge médicamenteuse des IOA à *K. kingae*, l'amoxicilline, voire le céfuroxime, constituent le traitement de choix de ces infections. Dans ce contexte, la très grande majorité des souches isolées, ne produit pas de pénicillase et reste sensible aux β -lactamines. En cas d'évolution favorable, un traitement oral peut être envisagé en relais du traitement IV initial, pour une durée totale de 2 à 3 semaines s'il s'agit d'une arthrite septique, voire jusqu'à 12 semaines en cas de spondylodiscite [6].

4.2.2 IOA sur matériel à bacilles à Gram négatif

La conférence de consensus de 2009 de la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF) fournit des recommandations précises pour la prise en charge thérapeutique des IOA sur matériel (prothèse, implant, ostéosynthèse) [29]. En cas d'infections à bacilles à Gram négatif, le traitement de référence est une association d'une β -lactamine et d'une fluoroquinolone ou d'un aminoside⁽¹⁾ [29]. La ciprofloxacine peut être utilisée par voie parentérale ou par voie orale avec des diffusions tissulaire et osseuse élevées, et se révèle particulièrement intéressante pour un relais en monothérapie, en cas de souche sensible. L'efficacité de cette fluoroquinolone a été confirmée très récemment, par Rodriguez-Pardo et al., lors de l'étude rétrospective d'une cohorte de 124 IOA sur matériel à bacilles à Gram négatif traitées par débridement-lavage et ciprofloxacine durant 69 jours en moyenne (79 % de réussite après un suivi médian de 25 mois vs 40 % de réussite dans le groupe témoin traité par d'autres familles d'antibiotique) [1]. En cas d'infections à un microorganisme multi-résistant, y compris aux fluoroquinolones (producteurs de β -lactamases à spectre étendu ou de carbapénémases), une étude sur modèle animal a montré une efficacité de l'association fosfomycine et colistine [36].

5. Moyens de prévention

5.1. IOA à *K. kingae*

À ce jour, il n'existe pas de marqueur prédictif d'infection invasive à *K. kingae*, et donc pas d'élément

pour développer une approche vaccinale contre cette bactérie commensale de l'oro-pharynx. Dans le cadre de petites épidémies en collectivité (crèche), une prophylaxie antibiotique par rifampicine peut être administrée aux sujets contacts pour limiter la propagation de l'épidémie [6].

5. 2. IOA sur matériel à bacilles à Gram négatif

En chirurgie prothétique orthopédique, les infections urinaires sont, sans conteste, un facteur de risque d'infections secondaires de prothèse, par passage systémique [8,37-39]. Il est donc recommandé de chercher la présence de signes généraux d'infection urinaire chez le futur opéré, et de traiter toute infection urinaire symptomatique avant la chirurgie [29,40]. *E. coli* est la 3^e espèce bactérienne la plus fréquemment rencontrée lors d'IOA sur matériel aiguës hémotogènes (5 à 16 % des cas selon les études), derrière *S. aureus* et les streptocoques, et le point de départ habituel de ces infections est urinaire [8,32,33,41].

La question du dépistage et du traitement des colonisations urinaires (bactériuries asymptomatiques) chez les patients programmés pour une pose de matériel orthopédique, suscite plus de controverses [39,41-44]. La plupart des recommandations de pratique clinique ne considère pas l'existence d'une colonisation urinaire comme un facteur de risque d'infection sur prothèse et ne recommande pas de dépistage urinaire systématique [40,45-47].

6. Conclusion

Les IOA à BGN constituent 15 à 20 % des infections osseuses. Chez l'enfant, le cadre est généralement une arthrite à *K. kingae*, dont le diagnostic s'est récemment amélioré (flacon hémoculture et PCR). Le traitement est essentiellement médical. Chez l'adulte, l'infection sur prothèse ou matériel à BGN est souvent liée à un contexte particulier et des facteurs de risque. Les entérobactéries, notamment *E. coli*, en raison d'un point de départ urinaire, mais également *P. aeruginosa* en sont les principaux acteurs. La physiopathologie de ces infections s'avère encore mal connue (voie de contamination, facteurs de virulence impliqués, persistance dans la matrice osseuse, SCV et production de biofilm), son investigation nécessiterait de nouvelles études. Le diagnostic microbiologique et la prise en charge chirurgicale permettent généralement un traitement avec une association comprenant une fluoroquinolone et maintien de la prothèse en place. À l'avenir, ces infections pourraient émerger en raison de l'accroissement de l'espérance de vie, de l'augmentation du nombre de matériels implantés et de l'émergence de bactéries hautement résistantes aux antibiotiques.

1. cf. article « Traitement des infections ostéo-articulaires » dans ce même numéro.

Conflits d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts avec le contenu de cet article

Références

- [1] Rodriguez-Pardo D, Pigrau C, Lora-Tamayo J, et al., Gram-negative prosthetic joint infection: outcome of a debridement, antibiotics and implant retention approach. A large multicentre study. *Clin Microbiol Infect* 2014; 20:O911-9.
- [2] Murillo O, Grau I, Lora-Tamayo J, et al., The changing epidemiology of bacteraemic osteoarticular infections in the early 21st century. *Clin Microbiol Infect* 2015; 21:254.e1-8.
- [3] Ferroni A, Al Khoury H, Dana C, et al., Prospective survey of acute osteoarticular infections in a French paediatric orthopedic surgery unit. *Clin Microbiol Infect* 2013; 19:822-8.
- [4] Ceroni D, Kampouroglou G, Valaikaite R, et al., Osteoarticular infections in young children: what has changed over the last years? *Swiss Med Wkly* 2014; 124:w13971.
- [5] Carter K, Doern C, Jo CH, et al., The clinical usefulness of polymerase chain reaction as a supplemental diagnostic tool in the evaluation and the treatment of children with septic arthritis. *J Pediatr Orthop* 2015 [Epub ahead of print]
- [6] Yagupsky P. *Kingella kingae*: carriage, transmission, and disease. *Clin Microbiol Rev* 2015; 28(1):54-79
- [7] Hsieh PH, Lee MS, Hsu KY, et al., Gram-negative prosthetic joint infections: risk factors and outcome of treatment. *Clin Infect Dis* 2009; 49:1036-1043.
- [8] Zmistowski B, Fedorka CJ, Sheehan E, et al., Prosthetic joint infection caused by Gram-negative organisms. *J Arthroplasty* 2011; 26:104-8.
- [9] Crémet L, Corvec S, Bémer P, et al., Orthopaedic-implant infections by *Escherichia coli*: molecular and phenotypic analysis of the causative strains. *J Infect* 2012; 64:169-175.
- [10] Basmaci R, Bidet P, Yagupsky P, et al., Major intercontinentally distributed sequence types of *Kingella kingae* and development of a rapid molecular typing tool. *J Clin Microbiol* 2014; 52:3890-3897.
- [11] Bárcena-Urbarri I, Benz R, Winterhalter M, et al., Pore forming activity of the potent RTX-toxin produced by pediatric pathogen *Kingella kingae*: Characterization and comparison to other RTX-family members. *Biochimica et Biophysica Acta* 2015; 1848:1536-1544.
- [12] Maldonado R, Wei R, Kachlani SC, et al., Cytotoxic effects of *Kingella kingae* outer membrane vesicles on human cells. *Microb Pathog* 2011; 51:22-30.
- [13] Kehl-Fie TE, Porsch EA, Yagupsky P, et al., Examination of type IV pilus expression and pilus-associated phenotypes in *Kingella kingae* clinical isolates. *Infect Immun* 2010; 78:1692-1699.
- [14] Ahmed N, Dobrindt U, Hacker J, et al., Genomic fluidity and pathogenic bacteria: applications in diagnostics, epidemiology and intervention. *Nat Rev Microbiol* 2008; 6:387-94.
- [15] Tenaillon O, Skurnik D, Picard B, et al., The population genetics of commensal *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol* 2010; 8:207-17.
- [16] Burgos Y, Beutin L, Common origin of plasmid encoded alpha-hemolysin genes in *Escherichia coli*. *BMC Microbiology* 2010; 10: 193.
- [17] Rasigade JP, Trouillet-Assant S, Ferry T, et al., PSMs of hypervirulent *Staphylococcus aureus* act as intracellular toxins that kill infected osteoblasts. *PLoS One* 2013; 8:e63176.
- [18] Wiles TJ, Mulvey MA, The RTX pore-forming α -hemolysin of uropathogenic *Escherichia coli*: progress and perspectives. *Future Microbiol* 2013; 8:73-84.
- [19] Morand PC, Billoet A, Rottman M, et al., Specific distribution within the *Enterobacter cloacae* complex of strains isolated from infected orthopedic implants. *J Clin Microbiol* 2009; 47:2489-95.
- [20] De Sanctis J, Teixeira L, Van Duin D, et al., Complex prosthetic joint infections due to carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: a unique challenge in the era of untreatable infections. *Int J Infect Dis* 2014; 25:73-8.
- [21] Gellatly SL, Hancock RE, *Pseudomonas aeruginosa*: new insights into pathogenesis and host defenses. *Pathog Dis* 2013; 67: 159-73.
- [22] Alhede M, Bjarnsholt T, Givskov M, et al., *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: mechanisms of immune evasion. *Adv Appl Microbiol* 2014; 86:1-40.
- [23] Morita Y, Tomida J, Kawamura Y, Responses of *Pseudomonas aeruginosa* to antimicrobials. *Front Microbiol* 2014; 4:422.
- [24] Al-Mayahi M, Betz M, Muller DA, et al., Remission rate of implant-related infections following revision surgery after fractures. *Int Orthop* 2013; 37:2253-8.
- [25] Veltman ES, Vos FJ, Meis JF, et al., Debridement, antibiotics and implant retention in early postoperative infection with *Pseudomonas aeruginosa*. *J Infect* 2015; 70:307-9.
- [26] Peel TN, Cheng AC, Buisson KL, et al., Microbiological aetiology, epidemiology, and clinical profile of prosthetic joint infections: are current antibiotic prophylaxis guidelines effective? *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56:2386-91.
- [27] Barrett L, Atkins B, The clinical presentation of prosthetic joint infection. *J Antimicrob Chemother* 2014; 69 Suppl 1:i25-i27.
- [28] Tande AJ, Patel R, Prosthetic joint infection. *Clin Microbiol Rev* 2014; 27:302.
- [29] Société de pathologie infectieuse de langue française (SPILF), et al., Recommendations for clinical practice. Osteo-articular infection therapy according to materials used (prosthesis, implants, osteosynthesis). *Med Mal Infect* 2009; 39:745-74.
- [30] Zimmerli W, Clinical presentation and treatment of orthopaedic implant-associated infection. *J Intern Med* 2014; 276:111-9.
- [31] Martinez-Pastor JC, Munoz-Mahamud E, Vilchez F, et al., Outcome of acute prosthetic joint infections due to Gram-negative bacilli treated with open debridement and retention of the prosthesis. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53:4772-7.
- [32] Rodriguez D, Pigrau C, Euba G, et al., Acute haematogenous prosthetic joint infection: prospective evaluation of medical and surgical management. *Clin Microbiol Infect* 2010; 16:1789-95.
- [33] Konigsberg BS, Della Valle CJ, Ting NT, et al., Acute hematogenous infection following total hip and knee arthroplasty. *J Arthroplasty* 2014; 29:469-72.
- [34] Sendi P, Frei R, Maurer TB, et al., *Escherichia coli* variants in periprosthetic joint infection: diagnostic challenges with sessile bacteria and sonication. *J Clin Microbiol* 2010; 48:1720-5.
- [35] Uçkay I, Bernard L, Gram-negative versus Gram-positive prosthetic joint infections. *Clin Infect Dis* 2010; 50:795.
- [36] Corvec S, Furustrand-Tafin U, Betrisey B, et al., Activities of fosfomicin, tigecycline, colistin, and gentamicin against extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* in a foreign-body infection model. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57:1421-1427.
- [37] Pulido L, Ghanem E, Joshi A, et al., Periprosthetic joint infection: the incidence, timing, and predisposing factors. *Clin Orthop Relat Res* 2008; 466:1710-5.
- [38] Cordero-Ampuero J, De Dios M. What are the risk factors for infection in hemiarthroplasties and total hip arthroplasties? *Clin Orthop Relat Res* 2010; 468:3268-77.
- [39] Sousa R, Munoz-Mahamud E, Quayle J, et al., Is asymptomatic bacteriuria a risk factor for prosthetic joint infection? *Clin Infect Dis* 2014; 59: 41-7.
- [40] Parvizi J, Gehrke T, Chen AF, Proceedings of the international consensus on periprosthetic joint infection. *Bone Joint J* 2013; 95: 1450-2.
- [41] Bouvet C, Tchernin D, Seirafi M, et al., No need to search for the source of haematogenous arthroplasty infections. *Swiss Med Wkly* 2011; 141:w13306.
- [42] Cordero-Ampuero J, Gonzalez-Fernandez E, Martinez-Velez D, et al., Are antibiotics necessary in hip arthroplasty with asymptomatic bacteriuria ? Seeding risk with/without treatment. *Clin Orthop Relat Res* 2013; 471:3822-9.
- [43] Uçkay I, Lübbecke A, Huttner B, Preoperative asymptomatic bacteriuria and subsequent prosthetic joint infection: lack of a causal relation. *Clin Infect Dis* 2014; 59:1506-7.
- [44] Sousa R, Soriano A, Guyot A, Reply to Uçkay et al. *Clin Infect Dis* 2014; 59:1507-8.
- [45] Société Française d'Anesthésie et de Réanimation (SFAR), et al., Examens pré interventionnels systématiques. 2012; www.sfar.org/article/901/examens-pre-interventionnels-systematiques-rfe-2012
- [46] Haute Autorité de Santé (HAS), et al., Recommandation de bonne pratique - Prothèse de hanche ou de genou : diagnostic et prise en charge de l'infection dans le mois suivant l'implantation. 2014; www.has-sante.fr
- [47] Société de pathologie infectieuse de langue française (SPILF), Diagnostique et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires de l'adulte. 2014; www.infectiologie.com/site/consensus_recos.php

Diagnostic des infections ostéo-articulaires

Céline Dupieux^{a,b}, Frédéric Laurent^{a,b,*}

RÉSUMÉ

Le diagnostic microbiologique des infections ostéo-articulaires est complexe et nécessite une collaboration forte entre orthopédistes, infectiologues et biologistes. Il est obligatoire de réaliser des prélèvements dans les conditions les plus strictes d'asepsie au bloc chirurgical avec un acheminement rapide au laboratoire de bactériologie. La multiplication des prélèvements facilite l'interprétation des résultats. Une fois au laboratoire, ces prélèvements doivent être traités dans des conditions d'asepsie pour éviter toute contamination. L'incubation des milieux gélosés doit être prolongée (minimum 14 jours) pour permettre la culture de toutes les bactéries. L'identification et les antibiogrammes sur tous les types de colonies bactériennes sont d'ailleurs indispensables. La biologie moléculaire est utile en cas de forte suspicion d'infection alors que les cultures sont négatives ou systématiquement en cas d'arthrite septique de l'enfant de moins de 4 ans.

Infections ostéo-articulaires – prélèvement – examen direct – culture – biologie moléculaire

1. Introduction

Les infections ostéo-articulaires (IOA) sont des infections sévères, généralement bactériennes, grevées d'une morbidité importante (séquelles fonctionnelles, récidives...). Leur prise en charge est complexe et nécessite une approche multidisciplinaire. En raison des difficultés de traitement, il est nécessaire de documenter avec précision la nature et l'origine de l'infection. Pour cela, l'examen bactériologique est crucial et se doit d'être de qualité afin de remplir deux objectifs : 1) confirmer l'IOA et identifier le ou les microorganismes en cause, et 2) déterminer la sensibilité aux antibiotiques de ces microorganismes afin d'optimiser l'antibiothérapie qui peut durer de plusieurs semaines à plusieurs mois.

Cependant, le diagnostic microbiologique est compliqué par différents facteurs : la rémanence parfois prolongée de certains antibiotiques au niveau osseux impliquant de réaliser si possible des fenêtres thérapeutiques avant les prélèvements, la variété des espèces pouvant être observées en culture avec la présence possible d'anaérobies ou l'existence de polymicrobisme, l'état métabolique fréquemment ralenti des bactéries au cours des IOA chroniques (phénotypes small colony variants (SCV) ou

bactéries agrégées au sein de biofilms) ainsi qu'un inoculum faible, notamment lors des infections chroniques sur matériel. De plus, l'interprétation des cultures peut se révéler délicate puisque de nombreuses bactéries responsables d'IOA peuvent aussi être des contaminants provenant de la microflore cutanée (contamination au moment du prélèvement ou lors de sa prise en charge au laboratoire).

2. Prélèvements

Le diagnostic microbiologique des IOA étant crucial, la qualité des prélèvements est un point essentiel. Afin de diminuer le risque d'isolement de bactéries contaminantes, les prélèvements doivent être profonds et réalisés dans des conditions d'asepsie chirurgicale. Parallèlement, afin de diminuer le risque d'obtenir des prélèvements faussement négatifs, il est recommandé de ne pas réaliser les prélèvements chez un patient sous traitement antibiotique ou, dans ce cas, de respecter une fenêtre thérapeutique minimale de 15 jours par rapport à toute antibiothérapie si l'état du patient le permet (absence de sepsis, risque faible de dissémination) [1]. Si la réalisation d'une fenêtre thérapeutique est impossible, l'existence d'un traitement récent doit être notifiée au laboratoire qui pourra être amené, en cas de culture négative malgré une forte suspicion d'IOA, à utiliser des approches moléculaires (recherche de l'ADN bactérien et non des bactéries viables elles-mêmes). Les prélèvements doivent être réalisés si possible avant l'injection de toute antibioprophylaxie. Il est également

SUMMARY

Diagnosis of bone and joint infections

Microbiological diagnosis of bone and joint infections is complex and needs strong collaboration between surgeons, infectious disease specialists and microbiologists. It is mandatory to take samples in the strictest conditions of asepsis in surgical unit with a quick delivery to the laboratory of Bacteriology. The multiplication of samples facilitates interpretation of results. In the lab, samples should be treated in aseptic conditions to avoid contamination. The incubation of the agar media has to be prolonged (14 days minimum) to allow the culture of all bacteria species. The bacterial identification and susceptibility testing on all types of bacterial colonies are also essential. Molecular biology is useful in case of strong suspicion of bone infection while cultures are negative or systematically in case of septic arthritis in children under 4 years.

Bone and joint infections – samples – diagnosis – culture – molecular biology

^a Laboratoire de bactériologie,
Hôpital de la Croix-Rousse, Hospices Civils de Lyon;

^b Centre de Référence des Infections Ostéo-Articulaires Rhône-Alpes
Auvergne (CRIOAc)

*Correspondance :

frederic.laurent@univ-lyon1.fr

article reçu le 30 septembre, accepté le 10 octobre 2015

© 2016 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

recommandé de multiplier les prélèvements afin d'augmenter la sensibilité et de faciliter l'interprétation des résultats de culture et la discrimination entre une contamination et une infection par des microorganismes de la microflore cutanéomuqueuse [2,3].

Différents types de prélèvements peuvent être réalisés et reçus au laboratoire de microbiologie. Les prélèvements les plus fiables pour documenter une infection osseuse sont la ponction de liquide articulaire, les prélèvements per-opératoires et, dans les infections aiguës, les hémocultures.

2.1. En pré-opératoire

■ **Les prélèvements superficiels de plaies, de cicatrices ou de fistules:** par écouvillonnage sont à proscrire en raison du fort risque de contamination par la microflore cutanée et du manque de concordance avec les microorganismes responsables de l'infection profonde, pouvant conduire à une prise en charge inadaptée [2]. Seuls les ponctions et prélèvements par abord en zone saine (biopsies « True-cut ») ont une valeur prédictive correcte. De plus, un prélèvement de pus à la seringue est préférable à un écouvillonnage puisqu'il assure la survie des bactéries sensibles à la dessiccation et des bactéries anaérobies. Les prélèvements de fistules ont un intérêt discutable et il n'est pas recommandé d'effectuer de prélèvement à partir de son orifice [2]. S'ils sont malgré tout réalisés, ils ne doivent l'être qu'après préparation cutanée et rinçage de la fistule, par aspiration profonde à la seringue ou au cathlon et devraient être limités aux patients inopérables.

■ **Pour les liquides de ponction (liquides articulaires, collections intra-tissulaires ou au contact de matériel ostéo-articulaire):** la culture doit être associée à un examen cytologique. Pour cela, une partie du liquide doit être recueillie dans un tube contenant un anticoagulant (tube citraté ou hépariné) afin de dénombrer les leucocytes et de réaliser une formule leucocytaire. Le liquide ponctionné peut être ensemencé en flacons d'hémoculture aérobies et anaérobies, surtout si le délai d'acheminement est supérieur à 2 heures, puisqu'ils constituent un milieu de transport, d'enrichissement et de dilution des inhibiteurs. Cependant, dans ce cas, un aliquot du prélèvement doit être impérativement réalisé à part pour les examens microscopiques, la culture classique et d'éventuels examens de biologie moléculaire. La culture en flacons d'hémoculture présente une sensibilité supérieure à la culture classique même si elle détecte moins bien les différents variants et les prélèvements polymicrobiens.

■ **Des biopsies percutanées au trocart ou « True-cut »** peuvent être réalisées sous scanner en préopératoire, en cas d'atteinte vertébrale [4] ou en présence d'un tissu de granulation sans liquide ponctionnable.

2.2. Les prélèvements per-opératoires

Réalisés au bloc chirurgical ils sont les prélèvements de choix pour le diagnostic des IOA. Ils doivent être multiples et réalisés au début de l'intervention, si possible avant toute antibioprophylaxie; on recommande classiquement 5 à 7 prélèvements (au minimum 3), en des sites anatomiques différents et si possible macroscopiquement pathologiques [2,3].

Un nombre inférieur diminue la sensibilité du diagnostic et risque d'engendrer des problèmes d'interprétation. À l'inverse, un nombre supérieur à 7 prélèvements augmente le risque de contamination et occasionne un surcoût et une surcharge de travail pour le laboratoire sans améliorer significativement la performance du diagnostic. Les prélèvements per-opératoires peuvent être liquides (pus, liquide articulaire) ou solides (tissu osseux, tissu de granulation, tissu d'interposition et tout tissu paraissant suspect), ils ne doivent pas être réalisés par écouvillonnage en raison du fort taux de faux-positifs et faux-négatifs [2,5]. Ils doivent être réalisés en double, voire en triple pour réaliser en parallèle des analyses d'anatomopathologie et éventuellement de biologie moléculaire. Néanmoins l'approche moléculaire peut être envisagée sur ce qu'il reste après ensemencement des prélèvements utilisés pour la culture. Il est déconseillé de réaliser des prélèvements systématiques chez tout patient subissant un acte de chirurgie orthopédique en dehors d'une suspicion d'infection afin d'éviter des faux-positifs qui posent des difficultés d'interprétation et peuvent pousser à modifier à tort la prise en charge. Une partie des prélèvements peuvent être placés dans un milieu de culture liquide directement au bloc opératoire, constituant alors un milieu de transport (comme le milieu de Rosenow) mais il est fondamental de le faire dans des conditions d'asepsie rigoureuses, le milieu liquide étant très favorable à la croissance de bactéries contaminantes et ne permettant pas de les différencier des pathogènes, notamment en raison de l'incapacité à quantifier l'inoculum bactérien initial.

2.3. Les prélèvements de matériel

Le matériel d'ostéosynthèse (vis, ciment, tiges) ou la prothèse peuvent être adressés au laboratoire avec son accord préalable pour s'assurer qu'il possède l'équipement nécessaire pour les traiter (notamment en ce qui concerne les grosses pièces comme les prothèses).

Les liquides de drainage n'ont pas de place dans le diagnostic des IOA. Leur seule indication est la surveillance post-chirurgicale en cas de reprise septique. Leur positivité peut constituer un marqueur de l'inefficacité du traitement et d'une évolution défavorable à condition que les prélèvements per-opératoires soient positifs. Ils ne doivent jamais être utilisés comme un outil diagnostique en cas de négativité des prélèvements per-opératoires initiaux [6]. Les drains de redons (tubulure) ne doivent, quant à eux, pas être traités au laboratoire de bactériologie.

En cas d'infection sur **fiche de fixateur externe**, l'écouvillonnage de l'écoulement présent autour de la fiche est déconseillé. Il est recommandé d'aspirer le liquide purulent le long de la fiche avec un cathlon monté sur une seringue, après nettoyage antiseptique de l'orifice de la fiche [2].

2.4. Autres prélèvements

Le laboratoire doit encourager la réalisation systématique d'hémocultures: i) en cas de fièvre et de signes généraux associés à une IOA, ii) devant toute infection aiguë, arthrite, ostéomyélite ou spondylodiscite primitive, et iii)

en post-opératoire immédiat en raison d'une bactériémie pouvant être induite par le geste chirurgical. En cas de positivité, ces hémocultures peuvent aider au diagnostic lorsque les prélèvements ostéo-articulaires restent négatifs ou lorsqu'il existe une incertitude sur la nature pathogène ou contaminante des bactéries isolées dans ces prélèvements. Des hémocultures peuvent également être conseillées chez des patients à risque (valves prothétiques,...) ou lors d'infections avec un pathogène à risque de dissémination comme *Staphylococcus aureus*.

3. Gestion des prélèvements

3.1. Transport au laboratoire

Le transport est une étape pré-analytique capitale pour les prélèvements ostéo-articulaires. Afin d'optimiser cette étape, une concertation et une coopération entre les services de chirurgie, le laboratoire et la logistique de l'établissement sont nécessaires.

Les prélèvements doivent être acheminés le plus rapidement possible au laboratoire, idéalement dans les quatre heures, à température ambiante. Si ce délai ne peut pas être respecté, des milieux de transport permettant la survie des bactéries fragiles et des anaérobies doivent être utilisés [7]. Tout retard d'acheminement doit être mentionné par le laboratoire sur son compte-rendu.

Il est indispensable que les échantillons correctement identifiés soient accompagnés d'informations détaillées concernant le préleveur, les dates et heures, la nature des prélèvements, les sites anatomiques et les informations cliniques (antibiothérapie, antécédents infectieux, reprise d'une prothèse, corticothérapie,...) sur un bon de demande spécifique. La recherche éventuelle de mycobactéries doit être précisée sur la demande.

3.2. Préparation des prélèvements au laboratoire

Les prélèvements ostéo-articulaires sont des prélèvements précieux et non renouvelables. Les résultats microbiologiques ayant à la fois un enjeu clinique majeur mais aussi potentiellement médico-légal, il est primordial de se donner le maximum de chances d'isoler les microorganismes responsables de l'IOA mais aussi d'éviter la contamination de ces prélèvements.

Ils doivent être manipulés sous hotte à flux laminaire type PSM II par un technicien portant des gants stériles changés régulièrement et utilisant du matériel stérile. L'observation des cultures doit se faire dans les mêmes conditions [2]. Les prélèvements liquides sont ensemencés après homogénéisation. Les prélèvements solides (fragments d'os ou de tissus) doivent être impérativement broyés dans un mortier stérile ou par toute autre méthode de broyage (notamment les homogénéiseurs/disperseurs à billes qui permettent de limiter les manipulations et les risques de contamination). Ceci permet de libérer les bactéries de la matrice osseuse, voire du biofilm, et ainsi d'augmenter la sensibilité de la culture [2,8,9]. Le diluant utilisé doit être de l'eau de qualité biologie moléculaire afin de pouvoir éventuellement réaliser secondairement des analyses par biologie moléculaire.

Pour le matériel d'ostéosynthèse (vis, ciment, tiges), l'ensemencement peut être réalisé par apposition sur des milieux gélosés ou directement en bouillon liquide avec vortexage intense. La sonication (50 Hz, 5 minutes) de ce matériel ou de la prothèse a été proposée par certains auteurs [10], mais reste pour l'instant discutée et peu utilisée. La culture du sonicat serait plus sensible que la culture classique car la sonication permettrait de décoller les bactéries de la surface du matériel et de les libérer du biofilm. Cependant, cette technique nécessite un sonicateur spécifique à ultrasons « basse puissance », ainsi qu'une organisation adaptée au sein du laboratoire, notamment pour la stérilisation des contenants. De plus, des risques de contamination liés à l'étape de réalisation ont été rapportés.

Les prélèvements n'étant pas renouvelables, le reste du prélèvement qui n'a pas été ensemencé doit être conservé par congélation (à - 80 °C ou à défaut à - 20 °C) au moins jusqu'au rendu définitif, et si possible quelques semaines après ce rendu, pour laisser la possibilité aux cliniciens de demander d'éventuelles analyses complémentaires (recherche spécifique de mycobactéries, champignons, techniques de biologie moléculaire).

4. Examen direct et culture

4.1. Cytologie

L'examen cytologique doit comporter :

- une coloration de Gram pour la recherche de bactéries : sa sensibilité est faible (6 à 30 %) mais sa spécificité élevée (99 %) lors d'infections chroniques ou sur prothèse [11] ; l'examen direct est plus fréquemment positif en cas d'infection aiguë ;
- une coloration adaptée pour l'évaluation semi-quantitative des polynucléaires neutrophiles (Gram ou coloration de May Grünwald).

Pour les liquides articulaires, l'examen cytologique inclura, à partir d'un tube citraté ou hépariné, une quantification des leucocytes avec réalisation d'une formule leucocytaire, ainsi qu'une recherche de microcristaux sur le liquide frais (permettant le diagnostic différentiel de chondrocalcinose et de goutte articulaire aiguë) [12]. Dans la majorité des cas d'arthrite septique, le liquide contient plus de 10 000 éléments/mm³ dont plus de 90 % de polynucléaires neutrophiles (PNN), souvent altérés. Dans le cas d'une infection sur prothèse, la réaction inflammatoire est moins importante et ces valeurs sont nettement inférieures. Pour une prothèse de genou, plus de 1 700 leucocytes/mm³ et plus de 65 % de PNN sont généralement révélateurs d'une infection (sensibilités et spécificités respectives de 94 et 88 % pour les leucocytes et de 97 et 98 % pour les PNN) [13,14]. Pour une prothèse de hanche, le seuil de leucocytes significatif en faveur d'une infection est d'environ 4 200 leucocytes/mm³ [15]. Ces chiffres sont valables en absence de maladie inflammatoire sous-jacente et à distance de la pose de prothèse (> 6 mois). La cytologie doit donc être interprétée en fonction du type de prothèse et du délai post-implantation.

4.2. Ensemencement

Il est recommandé d'ensemencer les liquides ou broyats obtenus à partir des prélèvements osseux sur des **milieux riches** incubés à **36 °C** dans des **atmosphères variées** et de prolonger l'**incubation au minimum 14 jours** [16,17]. Ceci est justifié par l'état métabolique des bactéries au cours des IOA (biofilm, bactéries intracellulaires, SCV) ainsi que par la grande diversité des bactéries détectées, notamment en présence de matériel.

L'ensemencement comprendra au minimum :

- une gélose au sang incubée en aérobiose avec lecture précoce à J1, J2 et tardive à J10 et/ou J14,
- une gélose au sang cuit supplémentée incubée sous 5 % de CO₂, avec lecture précoce à J1, J2 et tardive à J10 et/ou J14,
- une gélose pour bactéries anaérobies (gélose au sang ou gélose Schaedler) incubée en anaérobiose avec lecture précoce à J2 ou J3 et tardive à J10 et/ou J14,
- un milieu liquide de type bouillon Schaedler, bouillon Rosenow et/ou bouillon cœur-cerveau, avec lecture régulière jusqu'à J14. Une coloration de Gram ou un repiquage systématique est nécessaire avant de le déclarer stérile car certaines bactéries peuvent ne pas troubler les milieux liquides. L'utilisation des flacons d'hémoculture avec incubation prolongée à 14 jours dans un automate peut être envisagée, notamment en cas d'antibiothérapie récente (présence d'adsorbant d'antibiotiques).

Des milieux supplémentaires peuvent être ensemencés en fonction du contexte clinique, des antécédents infectieux et/ou de recherches spécifiques, notamment pour la recherche de mycobactéries ou de champignons.

Afin de limiter les risques de contamination des géloses au cours des lectures précoces, les géloses anaérobies et au sang cuit seront de préférence ensemencées en double, la seconde boîte étant réservée uniquement à la lecture tardive (ne devant pas être ouverte à J1, J2, J3). Pour les liquides articulaires, l'ensemencement de flacons d'hémoculture, si possible directement au lit du malade ou au bloc opératoire, est proposé en cas d'antibiothérapie récente ou en cours et pour permettre l'isolement de certaines bactéries fragiles et/ou de croissance lente (ensemencement immédiat, richesse du milieu, quantité de liquide ensemencé plus importante, présence de résines adsorbant les antibiotiques, action d'un agent lytique libérant les bactéries intracellulaires) [18]. Chez l'enfant, l'ensemencement en flacons d'hémoculture est indispensable car plus sensible que la culture classique pour l'isolement de *Kingella kingae* [19,20].

L'ensemble des opérations de lecture, de repiquage et de manipulation des milieux doit être effectué sous PSM II. La lecture devra être attentive et chercher à repérer les différents aspects de colonies, notamment les microcolonies pouvant représenter des variants métaboliques type SCV [21]. Une culture positive précoce en milieu solide ne doit pas faire stopper l'incubation qui doit être poursuivie jusqu'à au moins 14 jours afin de détecter les bactéries à croissance plus lente, les anaérobies ou les variants métaboliques dont la croissance est ralentie. En

effet, les infections polymicrobiennes représentent 10 à 15 % des IOA, notamment sur prothèse. En revanche, la positivité du milieu liquide doit faire stopper l'incubation puisque la consommation des substrats ne permettra plus la croissance d'autres microorganismes.

4.3. Identification et antibiogramme

Une identification et un antibiogramme (selon les recommandations du CA-SFM (www.sfm-microbiologie.org)) doivent être réalisés sur tous les aspects de colonies isolées, notamment pour les staphylocoques, car il est fréquent d'observer plusieurs phénotypes de résistance pour une même espèce bactérienne chez le même patient. Un antibiogramme sera réalisé sur au moins deux prélèvements afin d'être certain d'être en présence de la même souche bactérienne dans les différents prélèvements.

En cas d'isolement de staphylocoques, il est recommandé de déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des glycopeptides selon les recommandations du CA-SFM, et de confirmer la sensibilité à la pénicilline G et à la méticilline (par recherche du gène *mecA* ou de l'expression de PLP2a). Pour les souches de streptocoques non groupables, comme pour les endocardites infectieuses, il est recommandé de déterminer les CMI des bêta-lactamines (amoxicilline, céfotaxime). Pour *Pseudomonas aeruginosa*, il semble important de déterminer précisément les CMI des bêta-lactamines utilisées pour le traitement.

Les IOA évoluant fréquemment vers la chronicité, les prélèvements d'un même patient peuvent être pris en charge par différents laboratoires au cours des épisodes infectieux successifs. Le microbiologiste doit alors être vigilant lors de la confrontation éventuelle des identifications qu'il obtient avec des identifications réalisées dans d'autres laboratoires ou avec une autre technique. Ceci est surtout vrai pour les SCV et les staphylocoques à coagulase négative pour lesquels la reproductibilité de l'identification intra ou inter-automates est parfois limitée (notamment entre les galeries d'identification biochimique et la spectrométrie de masse). Les variants métaboliques de type SCV peuvent être sujets à des erreurs d'identification du fait de l'absence de caractères phénotypiques habituels (couleur des colonies, hémolyse, caractères biochimiques), notamment des *S. aureus* identifiés à tort sur la base de caractères biochimiques ou immunologiques (test d'agglutination) comme des staphylocoques à coagulase négative. L'identification par Maldi-Tof n'est pas influencée et permet de s'affranchir de ces difficultés. En cas de doute, l'identification certaine pourra également être confirmée par une méthode non phénotypique comme la détection par PCR de gènes spécifiques de l'espèce bactérienne ou le séquençage de l'ADN ribosomal 16S. Les souches bactériennes isolées de prélèvements ostéo-articulaires doivent être systématiquement conservées à -20 °C ou -80 °C (éviter les tubes gélifiés de conservation). Il n'existe pas de recommandations légales sur la durée de conservation mais une durée minimale de trois ans paraît souhaitable pour des considérations cliniques (complément d'antibiogramme, comparaison de souches isolées lors de reprises, rechutes/récidives avec la souche de l'épisode initial,...).

5. Interprétation

L'interprétation des résultats bactériologiques des prélèvements ostéo-articulaires peut se révéler complexe. Elle doit confronter i) le contexte clinique : infection aiguë vs. chronique, localisation de l'infection (ostéomyélite vs. arthrite primitive vs. infection sur prothèse), antibiothérapie préalable, ... et ii) les résultats des techniques bactériologiques : la ou les espèces identifiées, la nature et le nombre de prélèvements positifs et éventuellement, pour ces derniers, le nombre de milieux positifs et de colonies observées. La confrontation aux résultats de l'analyse anatomo-pathologique est également importante. Le dialogue clinico-biologique est évidemment essentiel en cas de difficulté d'interprétation.

L'interprétation repose sur l'analyse globale des résultats de tous les prélèvements profonds réalisés chez le patient. Il n'existe pas de consensus définitif concernant les critères bactériologiques exacts de diagnostic des IOA. La probabilité d'une infection augmente avec le nombre de prélèvements positifs en culture avec le même microorganisme. Dans le cas des prélèvements sur prothèse, la probabilité d'infection dépasserait 95 % lorsqu'au moins trois prélèvements sont positifs, se situerait autour de 20 % lorsque deux prélèvements sont positifs, serait de seulement 10 % lorsque seul un prélèvement est positif, et de 3 % en cas de croissance nulle [11].

Dans ce contexte, les critères permettant de retenir le diagnostic d'IOA peuvent être les suivants :

- présence d'au moins deux prélèvements positifs à une bactérie n'appartenant pas à la microflore cutanée et pour laquelle la question d'une contamination ne se pose pas (ex : *S. aureus*, entérobactéries, *P. aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae*, *Salmonella*, *Listeria*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Campylobacter*, *Pasteurella*, ...). Pour certains auteurs, un seul prélèvement positif pourrait suffire pour retenir le diagnostic d'IOA pour ces espèces classiquement pathogènes.
- présence d'au moins 3 prélèvements per-opératoires ou 2 prélèvements espacés dans le temps (1 prélèvement per-opératoire + 1 prélèvement par ponction articulaire ou hémoculture) positifs à la même bactérie (même espèce et même antibiogramme) appartenant à la microflore cutanée dont l'isolement pourrait poser la question d'une contamination (ex : staphylocoque à coagulase négative, *Propionibacterium acnes*, corynébactérie, ...),

Un seul prélèvement per-opératoire, sur une série de plusieurs prélèvements, positif avec un microorganisme classiquement détecté comme contaminant (staphylocoque à coagulase négative, *P. acnes*) est à interpréter avec précaution en confrontant les résultats de la culture (délai de pousse, nombre de colonies, nombre de milieux positifs) au contexte clinique, aux éventuels traitements antibiotiques préalables et à l'analyse anatomopathologique.

Dans le cas des arthrites, un prélèvement unique étant réalisé (liquide articulaire), l'affirmation du caractère pathogène ou contaminant des bactéries éventuelle-

ment isolées peut être complexe et doit se baser sur un faisceau d'arguments comprenant cytologie, nature de l'espèce bactérienne isolée, nombre de milieux positifs et éventuellement nombre de colonies en milieu solide et délai de positivité.

Dans les IOA aiguës, l'examen direct permet le plus souvent d'observer des microorganismes à la coloration de Gram. Les cultures se positivent souvent rapidement, en 24 à 48 heures, avec des colonies en grand nombre et monomorphes. L'identification par les méthodes classiques et l'antibiogramme ne présentent aucune difficulté particulière. L'interprétation des résultats ne pose donc habituellement pas de problème si le patient n'est pas sous antibiothérapie au moment du prélèvement.

Dans les infections chroniques au contraire, et en particulier en présence d'une prothèse, le diagnostic bactériologique peut s'avérer difficile. En raison du faible nombre de bactéries, l'examen direct est rarement positif. Les cultures sont plus longues à se positiver (parfois plusieurs jours). Il arrive que seules les cultures en milieux liquides enrichis se positivent et se posent alors des difficultés pour différencier contamination et infection. Le caractère parfois atypique des colonies peut être source d'erreurs : micro-colonies (SCV) de culture lente (notamment pour *S. aureus*, les staphylocoques à coagulase négative, *P. aeruginosa*, *Enterococcus* spp.) [22], polymorphisme d'une même espèce sur un même milieu gélosé avec des antibiogrammes différents faisant évoquer une contamination (*S. aureus* pouvant perdre sa pigmentation et son caractère hémolytique, par exemple) alors que le génotype révèle des souches génétiquement identiques. Sur prothèse, les infections polymicrobiennes sont fréquentes (10-15 % des cas), ce qui doit inciter à respecter la durée complète d'incubation de 14 jours et rechercher attentivement l'apparition de nouvelles colonies même lorsque la culture est positive précocement.

Il est important de garder à l'esprit que la négativité de tous les prélèvements n'exclut pas une infection (manque de sensibilité des cultures, infection décapitée par une antibiothérapie préalable, infection à bas bruit, bactéries de croissance difficile, ...). Seule la confrontation multidisciplinaire bactériologique, anatomo-pathologique, clinique, radiologique et chirurgicale permet de poser le diagnostic et de décider la prise en charge.

Compte tenu de la complexité d'interprétation et du nombre de prélèvements réalisés, la réalisation d'un compte-rendu synthétique des résultats bactériologiques, notamment en cas de positivité, est utile afin de faciliter l'analyse des résultats par les différents intervenants (chirurgiens, anesthésistes, infectiologues, ...) prenant en charge le patient immédiatement après le rendu mais aussi souvent à distance en raison du passage fréquent à la chronicité ou de rechutes/récidives de ces infections. Le contenu précis de ce compte-rendu peut être l'objet d'une concertation entre le microbiologiste et les cliniciens. Il récapitulera le nombre total de prélèvements, leurs localisations, le nombre de prélèvements positifs, le délai de pousse, le nombre de milieux positifs et le nombre de colonies isolées sur chacun, ainsi que l'identification et l'antibiogramme de chaque aspect de colonies.

6. Biologie moléculaire

6.1. Diagnostic moléculaire

Les méthodes de biologie moléculaire peuvent compléter les techniques conventionnelles de culture mais ne doivent jamais s'y substituer. Elles présentent une sensibilité imparfaite : seul un résultat positif est donc réellement contributif [23]. Elles restent pour l'instant réservées à des laboratoires spécialisés et il revient au biologiste, après discussion avec le clinicien, de décider si une telle analyse peut apporter un bénéfice par rapport aux approches classiques de culture. Il convient en général d'attendre les résultats des cultures pour rajouter une analyse par biologie moléculaire.

Des analyses complémentaires par biologie moléculaire peuvent être utiles dans deux situations :

- forte suspicion clinique d'IOA avec antibiothérapie préalable et/ou critères biologiques (CRP, cytologie,...) mais cultures négatives, les techniques de biologie moléculaire pouvant alors confirmer la présence de bactéries et assurer leur identification (un résultat négatif n'excluant pas une infection du fait du manque de sensibilité),
- absence de critère clinique d'IOA mais culture positive avec des difficultés d'interprétation entre une infection et une éventuelle contamination. Un ré-ensemencement du prélèvement conservé congelé peut permettre de confirmer/infirmar une contamination éventuelle au niveau des géloses. La présence d'ADN bactérien dans un ou plusieurs prélèvements peut permettre de confirmer l'existence d'une infection non suspectée surtout si les PCR sont réalisées sur des échantillons différents de ceux utilisés pour les cultures.

Différentes approches sont possibles en fonction du contexte et de l'orientation clinique :

- **PCR universelle** ciblant l'ADN ribosomal 16S présent chez toutes les bactéries : en cas de positivité, l'analyse de la séquence amplifiée permet d'identifier après séquençage l'espèce incriminée ; néanmoins, en cas d'infection polymicrobienne, l'analyse ne permet pas d'identifier les différentes bactéries présentes,
- **PCR spécifique** (plus sensible que la PCR universelle) conventionnelle ou en temps réel ciblant une espèce ou un genre lorsque le contexte clinique et épidémiologique oriente vers une ou des étiologies précises (*S. aureus*, *Kingella kingae*, *Streptococcus* sp., *Staphylococcus* sp.,...).

Ainsi, l'utilisation de la PCR spécifique *Kingella* a démontré sa nette supériorité en termes de sensibilité et de rapidité de diagnostic par rapport aux techniques de culture sur le liquide articulaire chez les enfants de moins de 4 ans [24].

Les techniques de biologie moléculaire peuvent donc se révéler très utiles dans certains cas mais l'impossibilité de déterminer la sensibilité aux antibiotiques des bactéries détectées ainsi que les limites de ces techniques en cas de faible inoculum ou d'infection polymicrobienne

expliquent que la culture reste la principale technique du diagnostic bactériologique des IOA.

6.2. Marqueurs moléculaires

Le recours à des marqueurs moléculaires (électrophorèse en champ pulsé, rep-PCR,...) doit rester exceptionnel. Il permet d'étudier le lien épidémiologique entre plusieurs isolats :

- de phénotypes différents provenant d'un même prélèvement ou d'une même série de prélèvements afin de confirmer ou d'éliminer une contamination,
- de prélèvements à distance chez le même patient afin de confirmer ou d'infirmar une récurrence ou une rechute,
- de patients différents afin de confirmer ou d'infirmar une épidémie nosocomiale.

7. Centres de référence inter-régionaux pour la prise en charge des infections ostéo-articulaires complexes CRIOAc

Il est à noter qu'il existe 8 centres de référence interrégionaux de prise en charge des infections ostéo-articulaires complexes. Ces centres ont une mission de coordination, d'expertise, de formation et de recherche, ainsi que de prise en charge des IOA les plus complexes. Toute difficulté clinique ou diagnostique peut donc leur être soumise.

8. Conclusion

Le diagnostic microbiologique des IOA nécessite **une collaboration forte entre cliniciens et biologistes**. Les points à retenir sont :

- l'importance de la nature et la réalisation des prélèvements ainsi que leur acheminement au laboratoire,
- la nécessité de multiplier les prélèvements pour faciliter l'interprétation avec un minimum 3 et un maximum 7 sauf cas particulier ;
- la limitation au maximum des manipulations et des risques de contamination ;
- la réalisation indispensable d'une incubation prolongée des géloses et milieux ;
- l'importance d'identifier et tester en antibiogramme tous les types de colonies ;
- l'intérêt d'un compte rendu de synthèse sur le modèle des compte-rendus d'anatomopathologie pour chaque patient facilitant l'analyse et l'interprétation des résultats ;
- l'utilité de la biologie moléculaire en cas de forte suspicion avec culture négative et en systématique en cas d'arthrite septique de l'enfant de moins de 4 ans ;
- l'importance de conserver les prélèvements reçus (date de rendu + 1 mois) et les souches isolées (minimum 3 ans).

Conflits d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts avec le contenu de cet article

Références

- [1] Esposito S, Leone S. Prosthetic joint infections: microbiology, diagnosis, management and prevention. *Int J Antimicrob Agents*. 2008 Oct;32(4):287–93.
- [2] Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française. Recommandations de pratique clinique: Infections ostéo-articulaires sur matériel (prothèse, implant, ostéo-synthèse). 2009 p. 107.
- [3] Osmon DR, Berbari EF, Berendt AR, et al. Diagnosis and management of prosthetic joint infection: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2013 Jan;56(1):e1–25.
- [4] Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française. Recommandations pour la Pratique Clinique: Spondylodiscites infectieuses primitives, et secondaires à un geste intra-discal, sans mise en place de matériel. 2007 p. 45.
- [5] Aggarwal VK, Higuera C, Deirmengian G, et al. Swab cultures are not as effective as tissue cultures for diagnosis of periprosthetic joint infection. *Clin Orthop*. 2013 Oct;471(10):3196–203.
- [6] Bernard L, Pron B, Vuagnat A, et al. The value of suction drainage fluid culture during aseptic and septic orthopedic surgery: a prospective study of 901 patients. *Clin Infect Dis*. 2002 Jan 1;34(1):46–9.
- [7] Desplaces N. Bactériologie des infections ostéoarticulaires chez l'adulte. *Rev Rhum*. 2006 Feb;73(2):129–35.
- [8] Portier H, Choutet P, Peyramond D, et al. Troisième Conférence De Consensus En Thérapeutique Anti-Infectieuse: Les Infections Bactériennes Ostéo-Articulaires en dehors des infections à mycobactéries 25 janvier 1991. *Médecine Mal Infect*. 1991 Jan;21(1):37–44.
- [9] Roux A-L, Sivadon-Tardy V, Bauer T, et al. Diagnosis of prosthetic joint infection by beadmill processing of a periprosthetic specimen. *Clin Microbiol Infect*. 2011 Mar;17(3):447–50.
- [10] Trampuz A, Piper KE, Jacobson MJ, et al. Sonication of removed hip and knee prostheses for diagnosis of infection. *N Engl J Med*. 2007 Aug 16;357(7):654–63.
- [11] Atkins BL, Athanasou N, Deeks JJ, et al. Prospective evaluation of criteria for microbiological diagnosis of prosthetic-joint infection at revision arthroplasty. The OSIRIS Collaborative Study Group. *J Clin Microbiol*. 1998 Oct;36(10):2932–9.
- [12] Haute Autorité de Santé. Recommandation de bonne pratique: Prothèse de hanche ou de genou : diagnostic et prise en charge de l'infection dans le mois suivant l'implantation. 2014 p. 29.
- [13] Patel R, Osmon DR, Hanssen AD. The diagnosis of prosthetic joint infection: current techniques and emerging technologies. *Clin Orthop*. 2005 Aug;437:55–8.
- [14] Trampuz A, Hanssen AD, Osmon DR, et al. Synovial fluid leukocyte count and differential for the diagnosis of prosthetic knee infection. *Am J Med*. 2004 Oct 15;117(8):556–62.
- [15] Schinsky MF, Della Valle CJ, Sporer SM, et al. Perioperative testing for joint infection in patients undergoing revision total hip arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am*. 2008 Sep;90(9):1869–75.
- [16] Schäfer P, Fink B, Sandow D, et al. Prolonged bacterial culture to identify late periprosthetic joint infection: a promising strategy. *Clin Infect Dis*. 2008 Dec 1;47(11):1403–9.
- [17] Drago L, De Vecchi E, Cappelletti L, et al. Prolonging culture to 15 days improves bacterial detection in bone and joint infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2015 Sep;34(9):1809–13.
- [18] Font-Vizcarra L, García S, Martínez-Pastor JC, et al. Blood culture flasks for culturing synovial fluid in prosthetic joint infections. *Clin Orthop*. 2010 Aug;468(8):2238–43.
- [19] Lejbkiewicz F, Cohn L, Hashman N, et al. Recovery of *Kingella kingae* from blood and synovial fluid of two pediatric patients by using the BacT/Alert system. *J Clin Microbiol*. 1999 Mar;37(3):878.
- [20] Høst B, Schumacher H, Prag J, et al. Isolation of *Kingella kingae* from synovial fluids using four commercial blood culture bottles. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2000 Aug;19(8):608–11.
- [21] Sendi P, Rohrbach M, Graber P, et al. *Staphylococcus aureus* small colony variants in prosthetic joint infection. *Clin Infect Dis*. 2006 Oct 15;43(8):961–7.
- [22] Proctor RA, von Eiff C, Kahl BC, et al. Small colony variants: a pathogenic form of bacteria that facilitates persistent and recurrent infections. *Nat Rev Microbiol*. 2006;4(4):295–305.
- [23] Bémer P, Plouzeau C, Tande D, et al. Evaluation of 16S rRNA gene PCR sensitivity and specificity for diagnosis of prosthetic joint infection: a prospective multicenter cross-sectional study. *J Clin Microbiol*. 2014 Oct;52(10):3583–9.
- [24] Chometon S, Benito Y, Chaker M, et al. Specific real-time polymerase chain reaction places *Kingella kingae* as the most common cause of osteoarticular infections in young children. *Pediatr Infect Dis J*. 2007 May;26(5):377–81.

Ostéite du pied diabétique

Jean-Philippe Lavigne^{a,b,*}, Catherine Dunyach-Rémy^{a,b}, Albert Sotto^{a,c}

RÉSUMÉ

Les ostéites des pieds sont une complication fréquente chez les diabétiques ayant une plaie. Leur diagnostic est souvent difficile. Il est basé en premier lieu sur les signes cliniques comprenant notamment la présence d'un os exposé au niveau de la plaie du pied ou d'un orteil en saucisse, associés à différents examens d'imagerie et une documentation microbiologique. Toutefois l'IRM n'est pas disponible pour tous les patients et la biopsie osseuse, examen de référence pour le diagnostic, est rarement pratiquée en routine. Les examens d'imagerie commencent généralement par une radiographie du pied. Lorsque cette radiographie n'est pas concluante ou lorsqu'il est nécessaire de faire un examen plus détaillé de l'atteinte de la peau, des tissus mous environnant et de l'os, d'autres examens sont prescrits comme l'IRM (qui est plus performante que la scintigraphie) ou les nouvelles techniques telles que le PET-Scan. En l'absence de biomarqueurs osseux spécifiques (la vitesse de sédimentation est le seul marqueur considéré comme informatif d'une ostéite), les cultures bactériennes osseuses et des tissus voisins permettent d'isoler le ou les pathogènes. Classiquement cette infection est polymicrobienne. Enfin, la prise en charge d'une ostéite nécessite une approche multidisciplinaire effectuée dans des cliniques du pied spécialisées dans cette complication.

Ostéites – pied diabétique – biopsie osseuse – imagerie – IRM.

1. Introduction

L'infection osseuse est fréquente chez le diabétique, présente dans 30 à 80 % des cas selon la gravité de l'infection [1]. Il peut s'agir d'ostéite isolée, surtout au niveau des orteils et du calcanéum, ou plus souvent d'ostéo-arthrite alors que les arthrites septiques isolées sont rares. Il ne s'agit pratiquement jamais, du moins initialement, d'ostéomyélite (terme consacré dans la littérature anglo-saxonne) car l'infection touche d'abord la corticale osseuse avant d'envahir éventuellement la médullaire. L'infection se fait en règle par contiguïté, à partir d'une plaie cutanée. L'origine hématogène d'une ostéite ou d'une ostéo-arthrite du pied est ainsi exceptionnelle chez le diabétique [2-5]. La difficulté pour les antibiotiques à éradiquer l'ostéite et la fréquence de sa récurrence résulte de particularités dominées par des phénomènes de destruction osseuse (séquestres

^a INSERM U1047,

Université de Montpellier, UFR de Médecine - 30908 Nîmes

^b Service de Microbiologie,

CHU Carémieu - 30029 Nîmes

^c Service de Maladies Infectieuses et Tropicales,

CHU Carémieu - 30029 Nîmes

*Correspondance:

jean.philippe.lavigne@chu-nimes.fr

article reçu le 13 août, accepté le 30 septembre 2015

© 2016 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

SUMMARY

Diabetic foot osteomyelitis

Osteomyelitis (OM) is a common complication of diabetic foot ulcers and/or diabetic foot infections. Determining whether or not infection is present in bone can be especially difficult. Diagnosis is firstly based on clinical signs (including the presence of exposed bone in the depth of a diabetic foot ulcer) supplemented by various imaging tests and microbiological data. However magnetic resonance imaging (MRI) is not readily available to many clinicians, and bone biopsy, which is the reference diagnosis tool, is rarely performed routinely. Imaging tests generally begin with foot X-rays; when these are inconclusive or when more detail of bone or soft tissue abnormalities is required, more advanced studies are needed. Among these, magnetic resonance imaging is generally superior to standard radionuclide studies, and newer hybrid imaging techniques (positron emission tomography/computed tomography and positron emission tomography/magnetic resonance imaging) look to be useful techniques. In the absence of specific bone biomarkers (measurement of the erythrocyte sedimentation rate is suggested as useful in osteomyelitis diagnosing), cultures of properly obtained soft tissue and bone specimens can diagnose and define the causative pathogens in diabetic foot infections. These infections are mainly polymicrobial. Multidisciplinary approach is essential to manage this foot osteomyelitis. This management must be performed in diabetic foot clinics specialized in this complication.

Osteomyelitis – diabetic foot – bone biopsy – imaging tests – MRI

avasculaires) et de modifications du métabolisme bactérien [6]. Il s'y ajoute un mauvais lit vasculaire, diminuant la diffusion *in situ* des antibiotiques.

Cette revue a pour but de faire le point sur la physiopathologie et le diagnostic des ostéites dans la pathologie du pied diabétique.

2. Quelques chiffres

Les patients diabétiques sont plus exposés que la population générale aux infections et en particulier à celles du pied. L'infection des plaies du pied augmente significativement la morbidité et la mortalité et induit inévitablement un surcoût non négligeable [7]. En effet, les ulcérations du pied sont la principale cause d'hospitalisation des patients diabétiques et représentent une des principales causes d'amputations des membres inférieurs [3,8,9]. Les risques d'hospitalisation et d'amputations sont 56

et 155 fois plus élevés chez les diabétiques qui ont une plaie du pied par rapport à ceux qui n'en ont pas [10]. Ainsi, 9,1 % des patients inclus dans un programme de prévention ou de traitement d'ulcérations des pieds ont développé une infection du pied dans les 2 ans [10]. La plupart de ces infections atteignait les tissus mous (derme et hypoderme) mais seulement 20 % de ces patients présentaient une ostéite confirmée par biopsie osseuse. Dans une étude européenne, 10 % des patients diabétiques ayant une plaie sans ischémie ni infection avaient une amputation. Ce chiffre s'élevait à 41 % chez les patients ayant ces facteurs de risque [11]. En France, une étude en 2010 effectuée dans des centres spécialisés dans cette pathologie a montré que près de 50 % des patients avaient une ostéite du pied. Le pronostic des infections des plaies du pied chez le diabétique demeurait très mauvais puisque près de la moitié des patients admis dans des services spécialisés dans la prise en charge de cette pathologie étaient amputés et 23 sur les 291 patients inclus dans l'étude décédaient dans l'année [12]. L'amputation des pieds chez le diabétique représente la première cause d'amputation en France.

3. Physiopathologie

Les mécanismes physiopathologiques de l'infection du pied diabétique sont divers [13]. La fréquence des infections chez le diabétique serait en rapport avec un déficit des mécanismes cellulaires de défense majoré par l'hyperglycémie, capable d'altérer les fonctions des leucocytes (phagocytose, adhérence, bactéricidie, chimiotactisme). En outre, l'hyperglycémie favorise les phénomènes d'apoptose et est à l'origine de perturbations hémorhéologiques responsables de troubles de la vascularisation distale.

L'effet délétère de la neuropathie et de l'hyperpression sur la plaie est également invoqué. L'indolence de la plaie liée à la neuropathie retarde son diagnostic et sa prise en charge et la persistance des forces de pression ou de friction s'exerçant sur l'ulcération lors de la marche facilite ainsi la survenue d'une infection et sa diffusion. L'absence de mise en décharge de la plaie est un facteur déterminant de l'évolution vers l'infection, ainsi qu'en témoigne le moindre taux d'infection et d'amputation en cas de plaies efficacement déchargées.

La chronicité de la lésion joue vraisemblablement aussi un rôle délétère dans l'infection comme le suggère la diminution de l'incidence des ostéites et des amputations lorsque le temps de cicatrisation est raccourci.

L'hypoxie est souvent impliquée, fréquente dans les ulcérations chroniques, conséquence d'une mauvaise perfusion locale et aggravée par l'hypermétabolisme de l'hôte et le métabolisme cellulaire microbien. La mort cellulaire et la nécrose tissulaire liées à l'hypoxie créent des conditions optimales à la prolifération microbienne. Elle favorise les infections sous-cutanées à anaérobies et diminue la bactéricidie des neutrophiles.

La sévérité particulière des infections chez le diabétique peut s'expliquer par une atteinte artérielle diminuant l'afflux de sang au site de la plaie et ainsi des facteurs endogènes impliqués dans la lutte contre l'infection. Cette artériopathie réduit la pénétration des antibiotiques au niveau des tissus ischémiés. Enfin, l'anatomie particulière du pied,

cloisonné en plusieurs loges, peut expliquer la diffusion rapide du processus infectieux.

L'atteinte des structures ostéo-articulaires est due à l'extension en profondeur des phénomènes infectieux secondaires à une plaie du pied. Plusieurs facteurs de risque d'ostéite du pied ont été identifiés : la présence d'une plaie, les plaies avec atteinte des structures osseuses sous-jacentes, la durée de l'ulcération supérieure à 1 mois, les ulcérations récidivantes, l'origine traumatique de l'ulcération, l'association à une artérite [10].

4. Diagnostic

4.1. Clinique

Le préalable à l'infection osseuse est la présence d'une ulcération du pied. Plus la plaie est étendue et profonde, plus la probabilité d'une ostéite sous-jacente est grande. L'atteinte ostéo-articulaire sous-jacente doit être évoquée dans les cas suivants : exposition osseuse, diamètre > 20 mm et profondeur > 3 mm de la plaie, récurrence de l'infection d'une ulcération, surtout si elle siège en regard d'une proéminence osseuse, évolution défavorable ou traînante malgré une prise en charge optimale et un apport artériel satisfaisant [4].

D'autres signes cliniques sont en faveur d'une ostéite :

- le contact osseux « rugueux » au moyen d'une sonde métallique stérile à pointe mousse introduite au travers de l'ulcération a une haute valeur prédictive positive, mais son absence n'élimine pas le diagnostic [14]. Les performances de ce test diagnostique ont cependant été mises en doute [15]. Son intérêt est surtout souligné en cas de présence d'autres signes cliniques d'ostéite ;
- l'exposition osseuse, l'aspect érythémateux œdématié en « saucisse » d'un orteil [16] ou la mobilité anormale d'un orteil sont également évocateurs d'une ostéo-arthrite.

4.2. Biologique

Les paramètres biologiques inflammatoires ne permettent pas de suggérer une atteinte ostéo-articulaire. Leur perturbation est très inconstante et non spécifique [17-19]. Une analyse multivariée récente suggérait que la vitesse de sédimentation était le meilleur marqueur diagnostique des ostéites [20]. La faible spécificité de ce marqueur a entraîné le quasi-arrêt de la réalisation de cette analyse par les laboratoires d'analyse.

4.3. Imagerie

4.3.1. Place de l'imagerie dans le diagnostic

Les radiographies simples sont à demander en première intention [3,21]. Les signes évocateurs associent en regard de la plaie, réaction périostée, ostéopénie et ostéolyse mais peuvent manquer à un stade précoce, ne devenant évidents qu'après une destruction de 30 à 50 % de l'os [4,22]. Les clichés peuvent ainsi être normaux pendant les premières semaines de l'infection [3,23] et il faut savoir les répéter au bout de 2 à 4 semaines. La sensibilité et la spécificité des radiographies sont très variables selon les auteurs, aux environs de 60-70 % [4]. L'interprétation des résultats radiographiques par un radiologue spécialisé permet d'augmenter la performance de cet examen.

En présence d'une forte suspicion d'ostéite clinique et en l'absence d'apparition de signes radiologiques, d'autres explorations complémentaires peuvent être envisagées : IRM [3,5] ou scintigraphie.

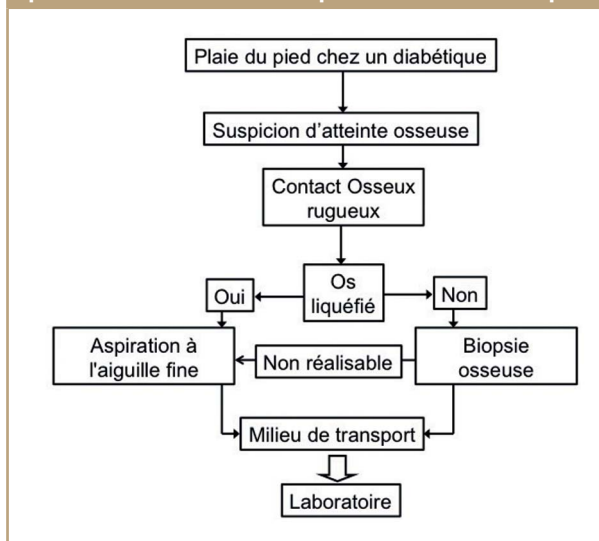
L'IRM est l'examen de choix du fait d'une meilleure sensibilité et spécificité [21,24], notamment pour les atteintes de l'avant-pied [25] et l'évaluation des tissus mous, bien que certains auteurs rapportent des performances très voisines entre ces examens [26]. La précision anatomique donnée par cet examen est particulièrement utile pour guider un éventuel geste chirurgical [27]. La distinction avec un pied de Charcot aigu reste toutefois difficile. L'expérience du radiologue dans le domaine permet d'améliorer l'intérêt de cet examen. En ce qui concerne les explorations isotopiques, la **scintigraphie osseuse** au technétium a une meilleure sensibilité mais sa spécificité est médiocre [3,28,29]. Elle ne doit pas être recommandée. Les scintigraphies aux polynucléaires marqués (Indium 111, HMPAO), et celles utilisant des anticorps anti-granulocytes (Leucoscan) [30,31], semblent avoir une meilleure spécificité pour le diagnostic de l'ostéite mais elles ne peuvent être interprétées que comparées à une scintigraphie osseuse au technétium (scintigraphie couplée). Seule la cohérence des images permet de conclure en faveur d'une ostéite [32,33]. Récemment le **PET-Scan** (Fluorine-18 Fluorodeoxyglucose positron emission tomography et scanner) a été évalué dans le diagnostic des ostéites du pied. Sa bonne sensibilité (70 %) et son excellente spécificité (> 90 %) en font un outil potentiellement intéressant en plus de l'IRM [34]. D'autres études seront nécessaires pour définir son positionnement.

L'échographie des parties molles à la recherche d'une abcédation voire l'échographie à visée diagnostique de l'ostéite [35] ont été proposées mais ne sont pas validées en pratique clinique.

4.3.2. Place de l'imagerie dans le suivi (guérison)

Il n'y a pas à ce jour d'étude pour juger de l'apport éventuel des examens d'imagerie dans le diagnostic de guérison d'une ostéite [13].

Figure 1 – Représentation schématique de la conduite à tenir pour la réalisation d'un prélèvement d'ostéite du pied chez le diabétique.



4.4. Bactériologie

4.4.1. Objectifs

Les prélèvements bactériologiques ont pour but de guider le clinicien dans le traitement antibiotique afin que ce traitement soit adapté. Ils sont essentiels lorsque le diagnostic d'ostéite est incertain, les données microbiologiques sont insuffisantes ou en cas d'échec après un traitement probabiliste. Une prise en charge multidisciplinaire est indispensable chez ces patients. Les protocoles de prélèvement doivent être conçus conjointement par les cliniciens et les microbiologistes en fonction des recommandations (figure 1). Une classification par niveaux de certitudes de présence/absence d'ostéite a été proposée comprenant 4 catégories (tableau I).

Tableau I – Critères proposés permettant le diagnostic d'ostéites de pied chez le diabétique [43].

	%	Critères	Prise en charge
Certain	> 90	Culture + de Biopsie osseuse et histologie + ou Pus intraosseux lors de l'intervention chirurgicale ou Séquestre osseux au travers de la plaie enlevé par le médecin ou le chirurgien ou Abscess intra-osseux à l'IRM	Traitement pour ostéite
Probable	51-90	Os médullaire exposé ou Signes d'ostéite à l'IRM ou Culture + de la Biopsie osseuse sans histologie ou histologie – ou Histologie positive sans culture ou culture négative	Débuter un traitement d'ostéite en complétant le bilan
Possible	10-50	Lyse corticale à la radiographie standard ou Œdème osseux ou cavités à l'IRM ou Os cortical exposé ou contact osseux rugueux + ou Défaut de cicatrisation sur un pied perfusé et mis en décharge adéquate depuis plus de 6 semaines ou une plaie de plus de 2 semaines avec des signes cliniques évidents d'infection	Traitement de l'ostéite peut être justifié mais d'autres investigations sont indispensables
Improbable	< 10	Pas de signe d'infection et radiographie normale et plaie présente depuis moins de 2 semaines ou absence de plaie et toute plaie superficielle ou IRM normale ou Scintigraphie osseuse normale	Pas de nécessité de bilan supplémentaire ni de traitement d'une ostéite

4.4.2. Le débridement

Les lésions sont toujours colonisées superficiellement par une flore bactérienne qui n'a pas nécessairement de signification pathologique. C'est la raison pour laquelle, avant tout prélèvement, la plaie doit être préparée. Le débridement a pour but d'exciser les parties molles nécrosées, les tissus dévitalisés et contaminés et les tissus fibreux pour ne laisser en place que du tissu sain et ainsi faciliter la cicatrisation [13].

Dans le cas d'une suspicion d'ostéite, il est important que le débridement soit chirurgical, fait au bloc opératoire par un chirurgien spécialisé (en particulier orthopédiste). Ce débridement a plusieurs objectifs : diagnostique (permettant l'exploration des différents compartiments du pied), pronostique (assurant la réalisation de prélèvements bactériologiques fiables), thérapeutique (permettant l'exérèse des tissus nécrosés et la réduction de l'inoculum bactérien) et préventive (permettant la correction des déformations du pied).

4.4.3. La biopsie osseuse

Elle est la méthode de référence pour le diagnostic bactériologique d'ostéite mais elle est rarement réalisée en dehors des centres spécialisés [4,5,36-38]. Elle est encore plus justifiée en cas d'échec d'une première antibiothérapie. Elle doit être réalisée après une fenêtre thérapeutique de 15 jours minimum [38]. Après le prélèvement, il est convenu d'attendre les résultats microbiologiques pour mettre en place l'antibiothérapie la plus adaptée possible. Le fragment osseux peut être prélevé par chirurgie (au moment de la prise en charge par le chirurgien spécialisé) ou par ponction percutanée en passant en peau saine au moyen d'un trocart, après désinfection la plus complète possible afin d'éviter toute contamination par des organismes présents sur la peau. Ce geste sera alors réalisé soit par un radiologue (par écho ou radio guidage), soit par un diabétologue (au lit du malade). En fonction de la localisation de l'atteinte, jusqu'à 5 prélèvements peuvent être réalisés. Le geste est inoffensif [38] et peut être réalisé sans anesthésie locale chez de nombreux patients du fait de la neuropathie sensitive [4]. L'échantillon doit être mis immédiatement dans un récipient stérile contenant du sérum physiologique pour éviter la dessiccation [39] ou dans un milieu de transport adapté. La comparaison avec le résultat de prélèvements plus superficiels (écouvillonnage superficiel ou ponction à l'aiguille fine) montre la supériorité de cette technique pour le diagnostic bactériologique de l'ostéite [38,40]. Les performances de la biopsie osseuse indiquent que lorsque cet examen est négatif, le risque d'avoir une ostéite est de moins de 25 % dans les 2 ans [41]. Toutefois, si la biopsie est non réalisable, le seul examen réalisable est la ponction à l'aiguille fine au contact de l'os [42].

Une analyse histologique peut être demandée [3,5]. Elle est un des examens clés du diagnostic selon la classification des ostéites [26,43]. L'absence d'anomalies histologiques peut aider le clinicien dans l'interprétation de résultats négatifs d'une culture bactérienne ou de prélèvements positifs uniquement au niveau de la peau et des tissus mous. Les données anatomopathologiques et/ou les cultures positives (quand elles ont été réalisées dans

les conditions optimales) sont suffisantes pour poser le diagnostic d'ostéite. Les performances de l'examen histologique ont été estimées à 92 % de sensibilité et 60 % de spécificité [26]. Ces performances sont évidemment fonction de la spécialisation de l'anatomopathologiste dans ce type d'analyse.

4.4.4. L'aspiration à l'aiguille fine ou au cathéter long

Elle peut être pratiquée si la biopsie osseuse n'est pas réalisable [13]. La ponction doit être effectuée en passant par une zone saine préalablement désinfectée. Elle doit être effectuée au contact de l'os. En l'absence d'obtention de liquide, 1 à 2 ml de sérum physiologique peuvent être injectés au contact de l'os puis réaspirés à l'aide d'une seconde aiguille pour être analysés [44,45]. La seringue ayant servi au prélèvement est envoyée au laboratoire sans l'aiguille, purgée d'air et bouchée hermétiquement et stérilement.

Des prélèvements répétés sont conseillés en cas d'évolution défavorable ou si l'état septique du patient est inquiétant.

4.4.5. Transport des prélèvements

Les prélèvements doivent être transportés dans des conditions optimales et transmis le plus rapidement possible au laboratoire de microbiologie, ce qui nécessite une collaboration étroite entre cliniciens, infirmiers et coursiers, en raison du risque important de dessiccation et de lyse bactérienne [46]. Ces échantillons doivent bénéficier de milieux de transport [47,48] pour augmenter la durée de survie des microorganismes [44] si la durée de transport entre le bloc et le laboratoire est supérieure à 2 h. Ils doivent être conservés à température ambiante jusqu'à l'ensemencement si cet ensemencement est réalisé rapidement. Des systèmes de transport avec billes métalliques contenant de l'eau pour biologie moléculaire sont adaptés pour ce type de prélèvement. Ils permettent une meilleure extraction des bactéries en biofilm, phénomène très fréquent dans le pied diabétique. Ils permettent également d'effectuer des PCR 16SrDNA si les cultures sont négatives alors qu'il existe une très forte suspicion clinique ou radiologique d'une ostéite. L'ensemencement direct de flacons d'hémoculture n'est pas recommandé en raison du risque de multiplication de la flore commensale non pathogène au détriment des bactéries réellement infectantes.

4.4.6. Écologie

De très nombreuses bactéries sont responsables d'ostéites du pied chez le diabétique. L'écologie de ces ostéites est assez similaire à celle des infections de la peau et des tissus mous, puisque l'atteinte osseuse est secondaire à l'extension en profondeur des bactéries ayant franchi la porte d'entrée cutanée. Les prélèvements sont donc très fréquemment polymicrobiens, même si le nombre d'espèces bactériennes isolées est plus faible dans les prélèvements osseux en comparaison aux prélèvements de la peau et des tissus mous [4]. Les bactéries aérobies à Gram positif sont les plus fréquentes avec *Staphylococcus aureus*. Cette prédominance des bactéries à

Tableau II – Écologie des ostéites des plaies du pied chez le diabétique.

Bactéries	Références								
	51	17	52	38	53	54	55	56	57
Cocci à Gram +									
<i>S. aureus</i>	40 %	31 %	47 %	26 %	47 %	38 %	86 %	33 %	31 %
SCN	10 %	50 %	11 %	26 %	11 %	12 %	10 %	14 %	-
Streptococci	45 %	27 %	61 %	12 %	3 %	1 %	-	9 %	3 %
<i>Enterococcus</i> sp.	30 %	8 %	28 %	8 %	1 %	-	18 %	12 %	-
Autre	10 %	-	-	2 %	-	-	-	4 %	2 %
Bacilles à Gram -									
Entérobactéries	55 %	20 %	14 %	18 %	29 %	36 %	11 %	18 %	32 %
<i>Pseudomonas</i> sp.	5 %	15 %	11 %	2 %	9 %	10 %	43 %	2 %	19 %
<i>Acinetobacter</i> sp.	-	-	-	-	-	3 %	-	-	13 %
Anaérobies	60 %	4 %	15 %	5 %	-	-	-	4 %	-
Polymicrobien	70 %	ND	83 %	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Gram positif n'est observée que dans les pays occidentaux. *Staphylococcus epidermidis* est fréquemment isolé démontrant, même si elle est faible, sa pathogénicité. Toutefois cette pathogénicité doit être évoquée quand les prélèvements ont été réalisés dans les conditions optimales pour éviter les contaminations par des bactéries colonisantes. Les bacilles aérobies à Gram négatif, essentiellement de la famille des entérobactéries (*Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp.), se rencontrent généralement, en cas d'infections chroniques ou déjà traitées. *Pseudomonas aeruginosa* est volontiers isolé après des hospitalisations de longue durée, l'application de pansements humides, ou des bains de pied. C'est la bactérie la plus fréquemment isolée dans les pays en voie de développement (Asie du Sud Est notamment). Enfin, les bactéries anaérobies strictes, le plus souvent cocci à Gram positif mais aussi bacilles à Gram négatif sont souvent associées à des bactéries aérobies. Leur isolement dépend des conditions de prélèvement et de transport de ces prélèvements et de la durée de culture des échantillons ensemencés (7 jours minimum, jusqu'à 14 jours) [13,38,41,49,50].

L'écologie bactérienne des ostéites est présentée dans le **tableau II**.

5. Conclusion

Le diagnostic précoce des ostéites du pied chez le diabétique et leur prise en charge énergique sont des facteurs qui limitent le risque d'évolution défavorable. La présence d'une ostéite augmente les risques d'intervention chirurgicale, avec amputation mineure (sous la cheville) ou majeure (au-dessus de la cheville), notamment en cas d'ischémie associée. La suppression de l'appui sur la plaie du pied diabétique raccourcit de manière significative le délai de cicatrisation et diminue le risque d'infection secondaire. La qualité du prélèvement est essentielle dans ce diagnostic et nécessite une biopsie osseuse réalisée au bloc opératoire par un chirurgien expérimenté. Une prise en charge multidisciplinaire est capitale.

Conflits d'intérêts: les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts avec le contenu de cet article

Références

- [1] Lipsky BA, Infectious problems in diabetic patients. In: Levin and O'Neal's The Diabetic Foot (6th ed). Bowker JH, Pfeifer MA, eds. St Louis: Mosby; 2001. p. 467-480.
- [2] Lipsky BA, Berendt AR, Embil J, et al., Diagnosing and treating diabetic foot infections. Diabetes Metab Res Rev 2004;20:S56-64.
- [3] Lipsky BA, Berendt AR, Deery HG, et al., Diagnosis and treatment of diabetic foot infections. Clin Infect Dis 2004;39:885-910.
- [4] Lipsky BA, Osteomyelitis of the foot in diabetic patients. Clin Infect Dis 1997;25:1318-1326.
- [5] Jeffcoate WJ, Lipsky BA, Controversies in diagnosing and managing osteomyelitis of the foot in diabetes. Clin Infect Dis 2004;39: S115-122.
- [6] Ciampolini J, Harding KG, Pathophysiology of chronic bacterial osteomyelitis. Why do antibiotics fail so often? Postgrad Med 2000;76:479-483.

- [7] Prompers L, Huijberts M, Schaper N, et al., Resource utilisation and costs associated with the treatment of diabetic foot ulcers. Prospective data from the Eurodiale study. Diabetologia 2008;51:1826-1834.
- [8] Lavery LA, Armstrong DG, Wunderlich RP, et al., Diabetic foot syndrome: evaluating the prevalence and incidence of foot pathology in Mexican Americans and non-Hispanic whites from a diabetes disease management cohort. Diabetes Care 2003; 26:1435-1438.
- [9] Jeffcoate WJ, Lipsky BA, Berendt AR, et al., Unresolved issues in the management of ulcers of the foot in diabetes. Diabet Med 2008;25:1380-1389.
- [10] Lavery LA, Armstrong DG, Wunderlich RP, et al., Risk factors for foot infections in individuals with diabetes. Diabetes Care 2006;29:1288-1293.
- [11] Schaper NC, Lessons from Eurodiale. Diab Metab Res Rev 2012;28:21-26.

- [12] Richard JL, Lavigne JP, Got I, et al., Management of patients hospitalized for diabetic foot infection: results of the French OPIDIA study. *Diabetes Metab* 2011;37:208-215.
- [13] Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française, Recommandations pour la pratique clinique: Prise en charge du pied diabétique infecté - Texte long. *Méd Mal Infect* 2007;37:26-50.
- [14] Grayson ML, Gibbons GW, Balogh K, et al., Probing to bone in infected pedal ulcers: a clinical sign of underlying osteomyelitis in diabetic patients. *JAMA* 1995;273:721-723.
- [15] Shone A, Burnside J, Chipchase S, et al., Probing the validity of the probe-to-bone test in the diagnosis of osteomyelitis of the foot in diabetes. *Diabetes Care* 2006;29:945.
- [16] Rajbhandari SM, Sutton M, Davies C, et al., "Sausage toe": a reliable sign of underlying osteomyelitis. *Diabet Med* 2000;17:74-77.
- [17] Newman LG, Waller J, Palestro CJ, et al., Unsuspected osteomyelitis in diabetic foot ulcers: diagnosis and monitoring by leukocyte scanning with indium 111 oxyquinoline. *JAMA* 1991;266:1246-1251.
- [18] Lavery LA, Armstrong DG, Quebedeaux TL, et al., Puncture wounds: normal laboratory values in the face of severe infection in diabetics and non-diabetics. *Am J Med* 1996;101:521-525.
- [19] Kaleta JL, Fleischli JW, Reilly CH, The diagnosis of osteomyelitis in diabetes using erythrocyte sedimentation rate: a pilot study. *J Am Podiatr Assoc* 2001;91:445-450.
- [20] Van Asten SA, Peters EJ, Xi Y, et al., The role of biomarkers to diagnose diabetic foot osteomyelitis. A meta-analysis. *Curr Diabetes Rev* 2015 Jul 12 (PMID 26166314).
- [21] Shults DW, Hunter GC, McIntyre KE, et al., Value of radiographs and bone scans in determining the need for therapy in diabetic patients with foot ulcers. *Am J Surg* 1989;158:525-529.
- [22] Tomas MB, Patel M, Marvin SE, et al., The diabetic foot. *Br J Radiol* 2000;73:443-450.
- [23] Edmonds M, Infection in the neuroischemic foot. *Int J Low Extrem Wounds* 2005;4:145-153.
- [24] Marcus CD, Ladam-Marcus VJ, Leone J, et al., MR imaging of osteomyelitis and neuropathic osteoarthropathy in the feet of diabetics. *Radiographics* 1996;16:1337-1348.
- [25] Lipman BT, Collier BC, Carrera GF, et al., Detection of osteomyelitis in the neuropathic foot: nuclear medicine, MRI and conventional radiography. *Clin Nucl Med* 1998;23:77-82.
- [26] Ertugrul MB, Baktiroglu S, Salman S, et al., The diagnosis of osteomyelitis of the foot in diabetes: microbiological examination vs. magnetic resonance imaging and labelled leucocyte scanning. *Diabet Med* 2006;23:649-653.
- [27] Tomas MB, Patel M, Marvin SE, et al., The diabetic foot. *Br J Radiol* 2000;73:443-450.
- [28] Berendt T, Lipsky BA, Is bone infected or not? Differentiating neuro-osteoarthropathy from osteomyelitis in the diabetic foot. *Curr Diab Rep* 2004;4:424-429.
- [29] Eckman MH, Greenfield S, Mackey WC, et al., Foot infections in diabetic patients. Decision and cost-effectiveness analyses. *JAMA* 1995;273:712-720.
- [30] Harwood SJ, Valvidia S, Hung GL, et al., Use of Sulesomab, a radiolabeled antibody fragment, to detect osteomyelitis in diabetic patients with foot ulcers by leucoscintigraphy. *Clin Infect Dis* 1999;28:1200-1205.
- [31] Delcourt A, Huglo D, Prangere T, et al., Comparison between Leukoscan (Sulesomab) and Gallium-67 for the diagnosis of osteomyelitis in the diabetic foot. *Diabetes Metab* 2005;31:125-133.
- [32] Maugendre D, Poirier JY, Nuclear medicine in the diagnosis of diabetic foot osteomyelitis. *Diabetes Metab* 2001;27:396-400.
- [33] Poirier JY, Garin E, Derrien C, et al., Diagnosis of osteomyelitis in the diabetic foot with a 99mTc-HMPAO leucocyte scintigraphy combined with a 99mTc-MDP bone scintigraphy. *Diabetes Metab* 2002;28:485-490.
- [34] Treglia G, Sadeghi R, Annunziata S, et al., Diagnostic performance of Fluorine-18-Fluorodeoxyglucose positron emission tomography for the diagnosis of osteomyelitis related to diabetic foot: a systematic review and a meta-analysis. *Foot* 2013;23:140-148.
- [35] Enderle MD, Coerper S, Schweizer HP, et al., Correlation of imaging techniques to histopathology in patients with diabetic foot syndrome and clinical suspicion of chronic osteomyelitis. *Diabetes Care* 1999;22:294-299.
- [36] Lipsky BA, A report from the international consensus on diagnosing and treating the infected diabetic foot. *Diabetes Metab Res Rev* 2004;20:S68-77.
- [37] Khatri G, Wagner DK, Sohnle PG, Effect of bone biopsy in guiding antimicrobial therapy for osteomyelitis complicating open wounds. *Am J Med Sci* 2001;321:367-371.
- [38] Senneville E, Melliez H, Beltrand E, et al., Culture of percutaneous bone biopsy specimens for diagnosis of diabetic foot osteomyelitis: concordance with ulcer swab cultures. *Clin Infect Dis* 2006;42:57-62.
- [39] Pellizzer G, Strazzabosco M, Presi S, et al., Deep tissue biopsy vs. superficial swab culture monitoring in the microbiological assessment of limb-threatening diabetic foot infection. *Diabet Med* 2001;18:822-827.
- [40] Kessler L, Piemont Y, Ortega F, et al., Comparison of microbial results of needle puncture vs. superficial swab in infected diabetic foot ulcer with osteomyelitis. *Diab Med* 2006;23:99-102.
- [41] Senneville E, Gaworowska D, Topolinski H, et al., Outcome of patients with diabetes with negative percutaneous bone biopsy performed for suspicion of osteomyelitis of the foot. *Diabet Med* 2012;29:56-61.
- [42] Senneville E, Morant H, Descamps D, et al., Needle puncture and transcutaneous bone biopsy cultures are inconsistent in patients with diabetes and suspected osteomyelitis of the foot. *Clin Infect Dis* 2009;48:888-893.
- [43] Berendt AR, Peters EJ, Bakker K, et al., Diabetic foot osteomyelitis: a progress report on diagnosis and a systematic review of treatment. *Diabetes Metab Res Rev* 2008;24:S145-161.
- [44] Johnson S, Lebahn F, Peterson LR, et al., Use of an anaerobic collection and transport swab device to recover anaerobic bacteria from infected foot ulcers in diabetics. *Clin Infect Dis* 1995;20:S289-290.
- [45] Lee PC, Turnidge J, McDonald PJ, Fine-needle aspiration biopsy in diagnosis of soft tissue infections. *J Clin Microbiol* 1985;22:80-83.
- [46] Grayson ML, Diabetic foot infections. Antimicrobial therapy. *Infect Dis Clin North Am* 1995;9:143-161.
- [47] Senneville E, Antimicrobial interventions for the management of diabetic foot infections. *Expert Opin Pharmacother* 2005;6:263-273.
- [48] Shah HN, Gharbia SE, The biochemical milieu of the host in the selection of anaerobic species in the oral cavity. *Clin Infect Dis* 1995;20:S291-300.
- [49] Hartemann-Heurtier A, Senneville E, Diabetic foot osteomyelitis. *Diabet Metab* 2008;34:84-95.
- [50] Senneville E, Brière M, Neut C, et al., First report of the predominance of clonal complex 398 *Staphylococcus aureus* strains in osteomyelitis complicating diabetic foot ulcers: a national French study. *Clin Microbiol Infect* 2014;20:O274-277.
- [51] Wheat LJ, Allen SD, Henry M, et al., Diabetic foot infections. Bacteriologic analysis. *Arch Intern Med* 1986;146:1935-1940.
- [52] Lavery LA, Sariaa M, Ashry H, et al., Microbiology of osteomyelitis in diabetic foot infections. *J Foot Ankle Surg* 1995;34:61-64.
- [53] Aragon-Sanchez FJ, Cabrera-Galvan JJ, Quintana-Marrero Y, et al., Outcomes of surgical treatment of diabetic foot osteomyelitis: a series of 185 patients with histopathological confirmation of bone involvement. *Diabetologia* 2008;51:1962-1970.
- [54] Aragon-Sanchez J, Lazaro-Martinez JL, Hernandez-Herrero MJ, et al., Clinical significance of the isolation of *Staphylococcus epidermidis* from bone biopsy in diabetic foot osteomyelitis. *Diabetic Foot Ankle* 2010;1.
- [55] Malizos KN, Gougoulas NE, Dailiana ZH, et al., Ankle and foot osteomyelitis: treatment protocol and clinical results. *Injury* 2010;41:285-293.
- [56] Lesens O, Desbiez F, Vidal M, et al., Culture of per-wound bone specimens: a simplified approach for the medical management of diabetic foot osteomyelitis. *Clin Microbiol Infect* 2011;17:285-291.
- [57] Elamurugan TP, Jagdish S, Kate V, et al., Role of bone biopsy specimen culture in the management of diabetic foot osteomyelitis. *Int J Surg* 2011;9:214-216.

Traitement des infections ostéo-articulaires

Tristan Ferry^{a,b,c,d}, Sébastien Lustig^{b,d,e}, Frédéric Laurent^{b,c,d,f}, Yves Gillet^{b,c,g}, Christian Chidiac^{a,b,c,d}, Florent Valour^{a,b,c,d} pour le Lyon BJI Study group

RÉSUMÉ

Le traitement des infections ostéo-articulaires nécessite une prise en charge multidisciplinaire. Pour les cas les plus complexes, cette prise en charge ne peut être réalisée que dans des Centres de références (CRIOAc). Le traitement associe classiquement une intervention chirurgicale suivie d'une antibiothérapie soit courte soit prolongée utilisant une mono ou une bithérapie. Ces variations dans le traitement sont fonction de l'âge du patient, du type d'infection et de la présence ou non de matériel. Dans cette revue, trois exemples de prises en charge d'infections ostéo-articulaires sont présentés : l'ostéomyélite de l'enfant, l'infection précoce de prothèse articulaire et la pseudarthrose septique.

Antibiothérapie – centre de référence des infections ostéoarticulaires complexes – infections ostéo-articulaires – intervention chirurgicale – prise en charge multidisciplinaire.

SUMMARY

Treatment of bone and joint infections

The treatment of bone and joint infections requires a multidisciplinary approach. For more complex cases, the management can only be achieved in Reference Centres (CRIOAc). Typically treatment involves surgery followed by antibiotics treatment either short or extended using mono or bithérapie. These variations in the treatment depend on the patient age, the type of infection and the presence or absence of material. In this review three examples of management of bone and joint infections are presented: osteomyelitis in child, early joint prosthesis infection and septic pseudarthrosis.

Antibiotherapy – Reference centre of complex bone and joint infections – bone and joint infections – surgery – multidisciplinary approach.

1. Introduction

Le traitement des infections ostéo-articulaires (IOA) ne se conçoit que dans le cadre d'une prise en charge multidisciplinaire, et en centre de référence pour les cas les plus complexes. Dans la grande majorité des cas, une chirurgie sera nécessaire, et sera suivie d'une antibiothérapie, parfois courte, parfois prolongée, parfois en utilisant un seul antibiotique, parfois en utilisant des combinaisons. Nous allons succinctement décrire le réseau des centres de référence tel qu'il est actuellement en place en France, puis prendre 3 exemples d'IOA, pour discuter des différentes stratégies thérapeutiques : l'ostéomyélite de l'enfant, l'infection précoce de prothèse articulaire, et la pseudarthrose septique.

2. Le réseau des Centres de référence des IOA complexes (CRIOAc) en France

Dans le domaine des IOA, il est absolument admis par tous les professionnels concernés qu'une prise en charge multidisciplinaire (chirurgien orthopédiste, infectiologue, microbiologiste) est indispensable pour définir la stratégie de prise en charge, identifier correctement les bactéries responsables de l'infection et proposer un traitement médical et chirurgical le plus adapté possible pour espérer préserver la fonction, et obtenir la guérison. Cette prise en charge multidisciplinaire n'est pas disponible dans toutes les structures hospitalières privées ou publiques, alors que certaines IOA, particulièrement complexes (IOAc), dont la prévalence est heureusement faible (<3 500 patients vus dans les CRIOAc en 2014), nécessitent un niveau particulièrement élevé d'expertise, de compétence et de moyens. La création de centres dits « de référence » est donc particulièrement adaptée à une situation où il existe une pathologie grave à faible prévalence et où peu de structures ont le niveau d'expertise requis pour prendre en charge cette pathologie. Dans le cas particulier des IOAc en France, la Direction générale de l'offre de soins (DGOS, qui dépend du ministère des Affaires sociales, de la Santé et des Droits des Femmes) a labellisé dès 2008 des Hôpitaux comme « Centres de référence pour la prise en charge des infections ostéo-articulaires complexes (CRIOAc) » complétés par des « centres correspondants » en 2011, afin d'assurer un maillage territorial minimal [1]. Ces labellisations sont effectuées et évaluées dans le cadre de plans de lutte successifs contre les infections

- a** Service de Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital de la Croix-Rousse, Hospices Civils de Lyon, France
- b** Université Claude Bernard Lyon 1
- c** Centre International de Recherche en Infectiologie, CIRI, Inserm U1111, CNRS UMR5308, ENS de Lyon, UCBL1, Lyon, France
- d** Centre de référence des infections ostéo-articulaires complexes (CRIOAc) Lyon
- e** Service d'Orthopédie et de Traumatologie, Hôpital de la Croix-Rousse, Hospices Civils de Lyon, France
- f** Laboratoire de Bactériologie, Hôpital de la Croix-Rousse, Hospices Civils de Lyon, France
- g** Service des Urgences Pédiatriques, Hôpital Femme-Mère-Enfant, Hospices Civils de Lyon, Bron, France

*Correspondance :
tristan.ferry@univ-lyon1.fr

associées aux soins. La sélection des centres a tenu compte des bassins de population, de la nécessité de réaliser un maillage du territoire permettant l'accessibilité géographique de ces structures pour les patients concernés, et du niveau d'expertise des centres. Il existe en 2015 neuf CRIOAc (localisés à Boulogne-Billancourt, Lyon, Lille, Marseille Paris, Nancy, Rennes, Toulouse, Tours) et 15 centres correspondants labellisés pour 5 ans et répartis dans 7 inter-régions. Les critères de complexité, justifiant théoriquement une prise en charge dans les CRIOAc ou les centres correspondants, sont détaillés dans l'instruction DGOS/PF2 n°2010-466 du 27 décembre 2010, publiée au Journal Officiel. En résumé, ceux-ci se déclinent en 4 items :

- terrain du patient : patient à haut risque anesthésique (modifiant la stratégie médico-chirurgicale) et/ou allergique aux antibiotiques,
- microbiologie : patient infecté avec un micro-organisme particulier, limitant les possibilités thérapeutiques (micro-organisme considéré comme difficile à traiter et/ou micro-organisme multirésistant),
- chirurgie : IOA nécessitant une stratégie chirurgicale lourde, souvent en plusieurs temps, avec reconstruction des parties molles et/ou reconstruction osseuse (le changement classique de prothèse en 2 temps n'est pas un critère d'IOAc),
- rechute/échec : tout patient en échec d'une première prise en charge.

Les CRIOAc et les centres correspondants ont plusieurs missions (détaillé dans l'instruction DGOS/PF2 n°2010-466), dont la plus importante est une mission de recours, d'expertise, d'orientation et de prise en charge : les CRIOAc et les centres correspondants doivent répondre aux demandes d'avis (appels de médecins généralistes, spécialistes, chirurgiens) et doivent pouvoir prendre en charge des IOA simples comme complexes. Les CRIOAc et les centres correspondants organisent et centralisent des réunions de concertations multidisciplinaires (RCP, dont le quorum (composition minimale) est constitué d'au moins un chirurgien orthopédiste, un infectiologue et un microbiologiste) en utilisant un système d'information dédié. La RCP doit valider le caractère complexe ou non de l'IOA, doit définir la stratégie de prise en charge ainsi que le lieu de la prise en charge (la structure initiale demandant l'avis ou le centre labellisé, selon le niveau de complexité).

3. Généralités sur l'antibiothérapie

Prescrire une antibiothérapie pour une suspicion d'IOA n'est pas anodin et implique d'emblée que :

- le clinicien ait une idée précise du diagnostic,
- le clinicien ait une idée précise du caractère aigu (sans mise en jeu des mécanismes de persistance) ou chronique de l'infection,
- le clinicien ait une idée précise du mécanisme d'inoculation de la bactérie au niveau du tissu osseux (infection hématogène ? post-opératoire ? par contiguïté suite à une plaie chronique ?),
- le clinicien ait une idée précise de la stratégie médico-chirurgicale, validée avec un chirurgien orthopédiste ; au mieux en réunion de concertation pluridisciplinaire, s'il

existe une indication chirurgicale,

- les prélèvements à visée bactériologique aient été réalisés,
- le clinicien ait connaissance des interactions médicamenteuses potentielles que pourrait avoir l'antibiothérapie avec le traitement habituel du patient,
- le clinicien ait connaissance des effets indésirables potentiels de l'antibiothérapie, qu'il en informe le patient, les prévienne, les recherche et les prennent en charge (modification de l'antibiothérapie).

Par ailleurs, les vascularisations du tissu osseux de l'enfant et de l'adulte sont complètement différentes, et la diffusion d'une antibiothérapie dans le tissu osseux est bien meilleure chez l'enfant que chez l'adulte. À titre d'exemple, les bêta-lactamines pénètrent presque aussi bien dans le tissu osseux que dans le tissu sous-cutané chez l'enfant (on peut donc utiliser facilement ces molécules, avec un relais oral précoce, et on peut parfois limiter la durée de l'antibiothérapie à quelques semaines), alors que ces molécules ont une mauvaise diffusion osseuse chez l'adulte (on utilise souvent ces molécules par voie intraveineuse (IV) avec de fortes doses, on préfère utiliser des molécules ayant une plus grande pénétration osseuse lors du relais oral, et la durée moyenne de l'antibiothérapie est de trois mois).

4. Ostéomyélite de l'enfant

L'ostéomyélite de l'enfant est une atteinte hématogène de la médullaire osseuse, au niveau des cartilages de croissance. Elle touche essentiellement les os longs, notamment au niveau de leur épiphyse et leur métaphyse (zone métaphyso-épiphysaire correspondants aux extrémités des os longs) et peut être associée à une arthrite [2].

4.1 Signes cliniques évoquant le diagnostic et prise en charge initiale

Une boiterie assez brutale, souvent fébrile, parfois quelques heures ou quelques jours après un traumatisme anodin est la manifestation clinique la plus fréquente. Il existe souvent une inflammation locale douloureuse en regard de la zone métaphyso-épiphysaire, et parfois une arthrite clinique (épanchement articulaire, rougeur, chaleur, douleur à la mobilisation). Les os les plus fréquemment touchés sont le fémur et le tibia (parties proximale ou distale) et l'enfant se plaint, en fonction des localisations, d'une douleur au niveau : du fémur proximal, du fémur distal, du genou s'il existe une arthrite du genou associée, du tibia proximal ou du tibia distal. Certaines formes multifocales destructrices associées à un choc septique évoquent *S. aureus* producteur de leucocidine de Panton Valentine (PVL), pouvant être sensible ou résistant à la méticilline. Rarement, la présentation clinique peut être chronique, sans fièvre, avec une abcédation intramédullaire (appelée également abcès de Brodie). L'échographie permet de confirmer le diagnostic, permet de rechercher des signes de complications, notamment un abcès sous-périosté, et permet de guider une éventuelle ponction [2].

4.2 Diagnostic microbiologique

Les hémocultures sont essentielles pour le diagnostic, car il s'agit d'une atteinte hématogène. Une bactériémie est donc

en théorie toujours associée (mais par toujours détectée). Lorsqu'une ponction articulaire est réalisée, le liquide articulaire doit être recueilli sur poudrier stérile, et sur flacon d'hémocultures. Les principales bactéries impliquées sont *Kingella kingae* (diagnostiquée le plus souvent par PCR réalisée à partir du poudrier stérile, lorsque les hémocultures sont stériles), *S. aureus* sensible à la méticilline, les streptocoques (particulièrement le streptocoque A) et le pneumocoque. *Salmonella* spp. peuvent être impliquées, notamment chez l'enfant ayant une drépanocytose [2].

4.3 Traitement médical

Le traitement d'une ostéomyélite aiguë non compliquée de l'enfant est essentiellement médical, en l'absence de complication. L'antibiothérapie est débutée immédiatement après la réalisation des hémocultures et d'une éventuelle ponction demandée en urgence. Une céphalosporine de première génération, notamment le céfamandole, est prescrite en première intention par voie IV (150 mg/kg/j en 4 injections), car elle couvre en probabiliste la plupart des bactéries responsables. L'association amoxicilline-acide clavulanique (150 mg/kg/j pour l'amoxicilline en 4 injections) est une alternative, d'autant plus que la pénétration osseuse est meilleure que le céfamandole. S'il existe un choc septique avec suspicion d'infection à *S. aureus* producteur de PVL, la vancomycine (40-60 mg/kg/j en 4 injections) et la clindamycine (40 mg/kg/j en 4 injections) sont souvent proposés. En l'absence de complication, devant une évolution favorable en 2 à 4 jours, un relais oral peut être proposé (céfamandole ou amoxicilline/acide clavulanique ou clindamycine si *S. aureus*; céfamandole ou amoxicilline pour *K. kingae*; amoxicilline pour un streptocoque ou un pneumocoque) pour une durée de 21 jours, si la CRP s'est normalisée. Les formes compliquées nécessitent souvent une chirurgie et une antibiothérapie prolongée, dont les modalités et la durée sont à discuter au cas par cas [2].

4.4 Traitement chirurgical

La chirurgie est rarement nécessaire au cours de l'ostéomyélite aiguë de l'enfant. La chirurgie doit être proposée systématiquement en cas d'atteinte multifocale associée à des abcédations profondes, chez un enfant présentant un choc septique secondaire à une infection disséminée à *S. aureus* producteur de PVL [3]. En dehors de cette situation exceptionnelle, la chirurgie est à discuter s'il existe un abcès sous-périosté ou intramédullaire, en l'absence d'évolution clinique favorable sous antibiothérapie [2].

5. Infections post-opératoires aiguës de prothèse

Lors de la pose d'une prothèse de hanche ou de genou, le risque de survenue d'infection post-opératoire est de 1 à 2 %, malgré toutes les mesures pré et peropératoires préventives (douches antiseptiques, rasage, flux laminaire dans les blocs opératoires, antibioprophylaxie). La prise en charge optimale des infections post-opératoires aiguës de prothèse (hanche ou genou) articulaire est un enjeu majeur pour réduire le risque de rechute et espérer réduire à terme le nombre d'IOA complexes. La Haute Autorité de Santé

(HAS) a publié en 2014 des recommandations de prise en charge afin de faciliter le repérage de ces patients, clarifier la prise en charge multidisciplinaire, et préciser le rôle du centre ayant posé la prothèse, notamment vis-à-vis des Centres de Références des IOA complexes (CRIOAc) [4]. La méthodologie rigoureuse de l'HAS de type « Recommandations de Bonnes Pratiques » a été utilisée, faisant appel à 2 chargés de projets (Pr. T. Ferry, HCL; Dr. T. Bauer, AP-HP) pour la rédaction de l'argumentaire scientifique, à un groupe de travail (21 experts incluant infectiologues, chirurgiens orthopédistes, microbiologistes, radiologues, médecins rééducateurs, médecins généralistes, et représentant des usagers) pour rédiger les recommandations, et à un groupe de lecture (53 personnes) pour les valider. Le niveau de preuve des recommandations étant faible, toutes les recommandations ont un niveau « accord d'expert ». Ces recommandations se limitent aux infections post-opératoires aiguës, survenant dans le mois suivant la pose de la prothèse. Elles ont tenu compte des recommandations de la *Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française* (SPILF) publiées en 2009 et celles de l'*Infectious Diseases Society of America* (IDSA) publiées en 2013 [5, 6]. Ces recommandations de la HAS permettent de clarifier la prise en charge des infections post-opératoires aiguës de prothèse, et précise le rôle majeur des équipes médico-chirurgicales ayant mis en place la prothèse dans la démarche diagnostique et thérapeutique.

5.1 Signes cliniques évoquant le diagnostic et prise en charge initiale

Un des objectifs importants de ces recommandations a été de décrire les signes cliniques affirmant l'infection des signes cliniques devant faire évoquer l'infection. Ainsi, les 3 signes cliniques suivants affirment le diagnostic : abcès palpable à l'examen clinique, écoulement purulent ou fistule. La présence de ces signes cliniques doit conduire directement à une arthrotomie-synovectomie-lavage sans réalisation d'examen morphologique, en dehors d'une simple radiographie pour éliminer un problème mécanique, notamment s'il s'agit d'une prothèse de hanche. Certains signes cliniques sont évocateurs d'infection de prothèse, mais ne sont pas spécifiques : incident cicatriciel (comme la persistance ou l'apparition d'une inflammation locale, apparition d'une désunion ou d'un écoulement non purulent), dégradation de la récupération fonctionnelle, réapparition ou persistance d'une douleur post-opératoire, avec ou sans signes généraux. Lorsque ces signes sont présents et un cas de doute diagnostique, il est recommandé à l'équipe médico-chirurgicale ayant mis en place la prothèse de proposer une ponction articulaire à visée diagnostique.

5.2 Traitement chirurgical

Le traitement chirurgical d'une infection post-opératoire aiguë de prothèse est l'arthrotomie-synovectomie-lavage avec changement des pièces mobiles. Il n'y a pas de place pour le lavage arthroscopique. L'arthrotomie-synovectomie-lavage doit être réalisé par l'équipe chirurgicale qui a posé la prothèse (donc pas de prise en charge en CRIOAc à ce stade), afin que les délais soient le plus court possible, et pour que les pièces mobiles soient disponibles (les pièces mobiles sont spécifiques à chacun des différents

Tableau I. Antibiothérapie lors des infections post-opératoires aiguës dans le mois qui suit la pose de prothèse (adapté d'après [4]).

	Traitement initial	Relais oral exclusif ¹
Staphylocoques multisensibles²		
Poids ≤70 kg	Oxacilline ou cloxacilline ³ IV 1,5 g/4h OU Cefazoline ⁴ 1g/6h IV	Ofloxacin ^{5,6,7} à la dose de 200 mg 2x/j ET Rifampicine ^{8,9} 900 mg 1x/j
Poids >70 kg	Oxacilline ou cloxacilline ³ IV 2g/4h OU Cefazoline ⁴ 2g/8h IV	Ofloxacin ^{5,6,7} à la dose de 200 mg 3x/j ET Rifampicine ^{8,9} 600 mg 2x/j
Entérobactéries sensibles¹⁰		
Poids ≤70 kg	Cefotaxime 2 g/8h IV OU Ceftriaxone 2g/24h IV	Ofloxacin ^{5,6} à la dose de 200 mg 2x/j OU Ciprofloxacine ⁶ 500 mg 2x/j
Poids > 70 kg	Cefotaxime 9 à 12g/j IV en 3 à 6 injections OU Ceftriaxone 1,5 à 2g/12h IV	Ofloxacin ^{5,6} à la dose de 200 mg x3/j OU Ciprofloxacine ⁶ 750 mg 2x/j
Streptocoques (sauf entérocoques)		
Si poids ≤ 70 kg	Amoxicilline 1,5 g/4 h IV OU Ceftriaxone ^{11,12} 2 g/24 h IV	Clindamycine ¹³ 600 mg x3/j OU Amoxicilline 2 g 3x/j
Si poids > 70 kg	Amoxicilline 2 g/4 h IV OU Ceftriaxone ^{11,12} 1,5 à 2 g/12 h IV	Clindamycine ¹³ 600 mg x4/j OU Amoxicilline 3 g 3x/j

1. Le relais oral exclusif ne peut s'envisager que si l'aspect local est favorable, et que si l'antibiogramme définitif du micro-organisme en cause est disponible.
2. Sensible à la méticilline et sensible aux fluoroquinolones et à la rifampicine.
3. La pénicilline M (cloxacilline) ne doit pas être utilisée en PO.
4. Si antécédent d'allergie non grave à la pénicilline
5. S'assurer de l'absence de contre-indication (antécédent d'intolérance, d'allergie ou d'épilepsie), d'adapter la posologie à la fonction rénale, de ne pas utiliser d'antiacides (ulcar®, maalox®) qui limitent l'absorption des fluoroquinolones. Recommander au patient de ne pas s'exposer au soleil et informer le patient que les fluoroquinolones peuvent entraîner des tendinopathies.
6. Les fluoroquinolones peuvent être introduites plus tôt, per os, en association avec le traitement intraveineux.
7. Concernant le SAMS et l'utilisation des fluoroquinolones, la ciprofloxacine et la levofloxacine sont des alternatives à l'ofloxacine. Le recul d'utilisation de l'ofloxacine est supérieur à celui de la levofloxacine. À noter que la ciprofloxacine a un spectre plus large (anti Pseudomonas) que l'ofloxacine et devrait être réservée aux infections à bactéries Gram négatif.
8. La rifampicine doit être donnée en dehors de toute prise alimentaire (30 minutes avant ou 1h30 après toute prise alimentaire). S'assurer de l'absence de contre-indication, de l'absence d'interaction médicamenteuse significative (antivitamine K, anticonvulsifs, antirétroviraux, pilule oestroprogestative). Prévenir d'une coloration rouge-orangée des urines.
9. Concernant le SAMS et l'utilisation de la rifampicine, le choix de ne pas l'introduire immédiatement est dicté par le souci de ne pas induire de résistance en cas d'évolution défavorable (inoculum élevé persistant).
10. Entérobactéries du groupe 1 et 2 (*E. coli*, *K. pneumoniae*) sensibles aux céphalosporines de 3^e génération (cefotaxime ou ceftriaxone) et aux quinolones (y compris l'acide nalidixique).
11. À privilégier si antécédent d'allergie non grave à l'amoxicilline et si nécessité d'une antibiothérapie IV en l'absence de voie veineuse centrale disponible.
12. Certaines équipes utilisent la cefazoline (1g toutes les 6 h IV) (impact écologique)
13. Vérifier que la souche est sensible à l'érythromycine et à la clindamycine

types de prothèse). Depuis la rédaction de l'argumentaire scientifique, de nombreux articles scientifiques rapportent un risque d'échec plus élevé en l'absence de changement des pièces mobiles [7]. En peropératoire, si la prothèse est sans ciment et s'il existe une mobilité, un changement complet des implants en 1 temps doit être envisagé.

5.3 Diagnostic microbiologique

Le diagnostic microbiologique s'effectue à partir des prélèvements peropératoires à partir du liquide articulaire, de la synoviale, d'abcès, et de tissus macroscopiquement suspect chez les patients présentant des signes cliniques affirmant l'infection. En préopératoire, il est recommandé de ne pas faire de prélèvements superficiels, et de réaliser des hémocultures. Dans l'hypothèse où une ponction

articulaire est réalisée à visée diagnostique chez un patient présentant une suspicion d'infection, le diagnostic peut être confirmé en préopératoire à partir du liquide articulaire (l'interprétation du compte cellulaire n'est toutefois pas possible dans le mois suivant la pose d'une prothèse). L'incubation de ces prélèvements « précieux » doit être de 14 jours.

5.4 Traitement médical

Les recommandations insistent sur la prise en charge de l'antibiothérapie et le suivi par un infectiologue. L'antibiothérapie probabiliste doit être débutée en post-opératoire immédiat, doit s'adapter à l'épidémiologie locale et doit cibler les principales bactéries responsables. Les données disponibles dans la littérature sur l'antibiothérapie des infections de prothèse sont majoritairement des études de cohorte, souvent très hétérogènes, incluant des patients principalement infectés avec les bactéries les plus fréquentes, comme *S. aureus*, les entérobactéries et/ou les streptocoques. Ces études ont clairement identifié une perte de chance potentielle lorsque l'association rifampicine-fluoroquinolone n'est pas utilisée dans les infections de prothèse à *S. aureus*, ou lorsqu'une fluoroquinolone n'est pas utilisée dans les infections à entérobactérie (entérobactéries du groupe 3, comme *Enterobacter* spp. exclues). Les recommandations sur l'antibiothérapie ne concernent donc que les situations les plus fréquentes et les plus favorables, c'est-à-dire les infections à *S. aureus* sensible à la méticilline et également sensible à la rifampicine et aux fluoroquinolones, les infections à entérobactérie (hors groupe 3) multisensible et notamment sensible aux quinolones de première génération (acide nalidixique), et aux streptocoques (tableau I). Toutes les autres situations (par exemple, infection à *S. aureus* ou à entérobactérie résistants aux fluoroquinolones, infection plurimicrobienne,

infection à entérocoque, à *P. aeruginosa* ou à levure,... doivent potentiellement faire l'objet d'un contact entre l'infectiologue en charge du patient et un CRIOAc. La durée du traitement IV n'est pas consensuelle. Le relais par voie orale doit s'envisager en fonction de plusieurs éléments, notamment en fonction des constatations peropératoires (état local des tissus, qualité du geste chirurgical, changement des pièces mobiles ou non), de l'obtention définitif des résultats des cultures, de l'évolution locale sous traitement IV, et de l'accès veineux. Il est globalement souvent en pratique de 7 à 21 jours maximum. Dans les infections à *S. aureus* et à entérobactérie multisensible, il est proposé d'utiliser l'ofloxacine plutôt que la ciprofloxacine, afin d'épargner le plus possible cette dernière. La durée totale du traitement n'est pas consensuelle, elle doit être

de 6 semaines à 3 mois. Certains éléments récents nous laissent à penser que 6 semaines de traitement pourraient être insuffisantes pour les infections à *S. aureus* (cette bactérie étant un facteur de risque indépendant d'échec dans plusieurs études de cohorte et dans un essai randomisé 6 semaines *versus* 3 mois au cours des spondylodiscites aiguës, et *S. aureus* ayant une grande capacité d'internalisation et de persistance dans des modèles *ex-vivo*) [10-12]. La surveillance clinique et biologique de la bonne tolérance de l'antibiothérapie est essentielle, car 15 % des patients vont présenter un effet indésirable grave à l'antibiothérapie [13]. L'IOA devient donc complexe chez ces patients, puisque le traitement de 1^{re} intention est souvent changé pour un traitement de 2nde ligne, potentiellement moins efficace, et pouvant impacter le pronostic.

6. Pseudarthrose septique

La pseudarthrose septique est un exemple d'IOA chronique sur matériel qui menace le patient d'amputation. La prise en charge est complexe, le diagnostic difficile et plusieurs chirurgies sont souvent nécessaires, comprenant notamment une chirurgie de résection osseuse, de couverture cutanée avec réalisation d'un lambeau et de reconstruction osseuse.

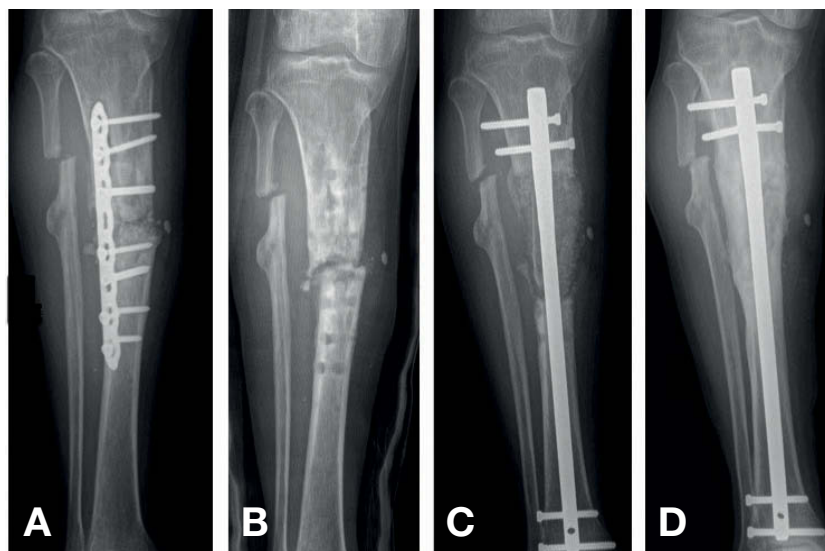
6.1 Signes cliniques évoquant le diagnostic et prise en charge initiale

Au cours de la pseudarthrose septique, le patient a le plus souvent peu de signes cliniques. Il est le plus souvent apyrétique. La pseudarthrose septique survient généralement chez un patient ayant présenté une fracture ouverte ou non, souvent du tibia, et pour laquelle aucune consolidation n'est visible à la radiographie. Dans ces situations, tous les mécanismes de persistance bactériens (biofilm, variant microcolonies) sont certainement mis en jeu. À titre d'exemple, un patient de 40 ans présentait un accident de la voie publique avec fracture du tibia ayant nécessité une ostéosynthèse. Le patient nous a consultés 2 ans plus tard pour des douleurs persistantes à l'appui. La radiographie a révélé une pseudarthrose (absence de consolidation du foyer de fracture et des vis étaient cassées) (**figure 1, panel A**). Ce patient avait un bon état cutané. La CRP était basse à 21 mg/L.

6.2 Traitement chirurgical

La stratégie dans ce genre de situation est une stratégie en plusieurs temps avec un 1^{er} temps pour traiter l'infection, et un 2^e temps pour reconstruire le tissu osseux, si l'infection est contrôlée, pour obtenir une consolidation et éviter l'amputation. Dans un 1^{er} temps, il faut procéder à l'ablation de l'ostéosynthèse, réaliser un curetage osseux pour éradiquer les séquestres, et permettre la documentation bactériologique (**figure 1, panel B**). Lors de ce geste chirurgical, si la

Figure 1 – Pseudarthrose septique sur ostéosynthèse chez un patient de 40 ans.



On notera l'absence de consolidation et la présence de 2 vis cassées (les plus distales) (panel A). La prise en charge va consister en 2 temps, avec un 1^{er} temps de traitement de l'infection (ablation de la plaque, curetage osseux, antibiothérapie) (panel B) et un 2^e temps de reconstruction osseuse avec greffe osseuse massive et stabilisation par cou (panel C) pour obtenir une consolidation et éviter ainsi l'amputation (panel D).

perte osseuse est importante, un ciment souvent imprégné d'antibiotique (vancomycine ou gentamicine) est mis en place au niveau de l'espace mort (technique dite de Masquelet). Après ce geste chirurgical, la jambe doit être immobilisée par une botte plâtrée postérieure (si peu de perte osseuse) ou un fixateur externe. S'il existe une perte de substance cutanée importante, celle-ci doit être réséquée, un système de pansement aspiratif (type VAC) doit être mise en place (complète le débridement, facilite le bourgeonnement), et un lambeau de couverture doit être réalisé par des chirurgiens plasticiens sous 7 à 10 jours (permet une couverture cutanée, et facilite la vascularisation locale, et notamment l'apport d'antibiotique).

6.3 Diagnostic microbiologique

De multiples prélèvements bactériologiques tissulaires au niveau osseux doivent être réalisés (au moins 5), après une fenêtre antibiotique de minimum 15 jours (l'intervention doit être reportée si le patient a dû prendre une antibiothérapie pour autre chose). Ces éléments sont essentiels pour le diagnostic de ces IOA chroniques. Les cultures doivent être conservées 14 jours. Chez notre patient pris en exemple, tous les prélèvements sont revenus positifs à *Staphylococcus epidermidis* sensible à la méticilline producteur de « *small colony variant* ».

6.4 Traitement médical

Le traitement médical doit suivre les recommandations de la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française publiées en 2008 [5]. L'antibiothérapie doit consister en une antibiothérapie probabiliste administrée en post-opératoire immédiat, après la réalisation des prélèvements per-opératoires, et à poursuivre jusqu'à une consultation en Maladies Infectieuses à J +15/J +21 pour viser les résultats définitifs

des cultures. Une voie d'abord centrale est nécessaire pour pouvoir traiter ces patients au moins 15 jours par voie IV. Si la chirurgie de mise en place du matériel date de moins d'1 an, des bacilles à Gram négatif peuvent être impliqués, mais les cocci à Gram positif restent majoritaires (l'infection est polymicrobienne dans 15 à 20 % des cas). Dans cette situation, l'association pipéracilline-tazobactam (4 g/8 h si poids < 100 kg ; 4 g/6 h si poids > 100 kg) est souvent proposée en association avec la vancomycine (2 à 4 g/j, en continue ou en 2 injections/j). Si la mise en place date de plus d'1 an, ces infections sont quasi exclusivement liées à des cocci à Gram positif tels que *S. aureus*, des staphylocoques à coagulase négatif, *P. acnes*, ou des entérocoques. Dans cette situation, la vancomycine est souvent proposée en association avec la clindamycine (1 800 à 2 400 mg/j en 3 à 4 prises). À la réception définitive des cultures, l'antibiothérapie est adaptée en fonction des bactéries identifiées : une antibiothérapie par amoxicilline par voie IV forte dose s'il s'agit d'un entérocoque ; une antibiothérapie par amoxicilline ou clindamycine s'il s'agit d'un *P. acnes*. Une biantibiothérapie antistaphylococcique par voie orale avec des molécules ayant une bonne pénétration osseuse comme par exemple l'association ofloxacine – rifampicine doit être privilégiée si l'antibiogramme le permet au cours des infections à *S. aureus* ou à staphylocoques à coagulase négatif. Dans notre exemple, notre patient a été traité par cette association pour une durée de 3 mois (aucun essai thérapeutique est actuellement en cours pour réduire la durée de l'antibiothérapie de ces infections chroniques de mauvais pronostic) [5].

6.5 Reconstruction et suivi

Après avoir traité et contrôlé l'infection, il est nécessaire d'envisager la reconstruction osseuse. Plusieurs techniques existent (plaque, clou), et la perte de substance osseuse est souvent comblée par une autogreffe (prélèvement au niveau d'une aile iliaque). Si le patient a eu un lambeau, celui-ci doit être remobilisé par les chirurgiens plasticiens pour avoir accès au site infecté (il s'agit donc d'une chirurgie combinée). Chez notre patient, une nouvelle résection osseuse a été réalisée (en zone « saine ») avec mise en place d'un clou centromédullaire et greffe osseuse autologue massive (figure 1, panel C). Lorsque ce temps de reconstruction est réalisé, il est nécessaire à nouveau de réaliser une fenêtre osseuse de 15 jours, de refaire des prélèvements multiples, et de débiter à nouveau une antibiothérapie probabiliste jusqu'aux résultats définitifs des cultures. Si les prélève-

ments sont négatifs, l'antibiothérapie est arrêtée ; s'ils sont positifs, il s'agit d'une infection persistante ou d'une « superinfection », pour laquelle l'antibiothérapie sera à nouveau adaptée et poursuivie, jusqu'à la consolidation. Chez notre patient, les prélèvements étaient stériles, l'antibiothérapie a été arrêtée, et une consolidation a été obtenue avec une marche sans douleur 2 ans après la prise en charge initiale (figure 1, panel D).

7. Autres exemples d'IOA

Beaucoup d'autres IOA sont décrites, avec des prises en charges spécifiques. Les spondylodiscites sont des infections du rachis survenant par voie hématogène. La chirurgie n'est proposée qu'en cas de complication, notamment s'il existe une compression médullaire. Dans la grande majorité des cas, l'antibiothérapie suffit à guérir les patients. Une étude récente n'a pas montré de différence entre une durée de 6 semaines *versus* 3 mois, mais la non-infériorité n'a pas pu être démontrée chez les patients de plus de 75 ans, les patients immunodéprimés, diabétiques, ou ayant une abcédation ou une complication neurologique [11]. Concernant les infections de prothèses, celles-ci peuvent être chroniques, c'est-à-dire se révéler plusieurs mois après la pose. Le descellement septique est la présentation clinique la plus classique. Dans cette situation, il est nécessaire de recourir à un changement de prothèse en 1 ou en 2 temps, associé à une antibiothérapie ciblée sur les pathogènes détectés. La durée de l'antibiothérapie est généralement de 3 mois [14].

8. Conclusion

Le traitement des IOA est très variable selon le type d'infection : enfant/adulte ; aigu/chronique ; présence de matériel ou non. Choisir la bonne stratégie médico-chirurgicale est essentiel pour ne pas altérer le pronostic. Tout praticien prenant en charge une IOA doit connaître les critères de complexité justifiant un avis auprès du CRIOAc de son choix. Le traitement médical, et plus particulièrement l'antibiothérapie, n'est généralement qu'une partie du traitement d'une IOA, en dehors de l'ostéomyélite de l'enfant et de la spondylodiscite non compliquée de l'adulte.

Conflits d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts avec le contenu de cet article

Lyon BJI Study Group :

Infectiologues – Tristan Ferry, Thomas Perpoint, André Boibieux, François Biron, Florence Ader, Julien Saison, Florent Valour, Fatiha Daoud, Johanna Lippman, Evelyne Braun, Marie-Paule Vallat, Patrick Mialhes, Christian Chidiac ;

Chirurgiens – Sébastien Lustig, Philippe Neyret, Olivier Reynaud, Adrien Peltier, Anthony Viste, Jean-Baptiste Bérard, Olivier Cantin, Romain Desmarchelier, Thibault Vermersch, Philippe Chaudier, Michel-Henry Fessy, Cédric Barrey, Francesco Signorelli, Emmanuel Jouanneau, Timothée Jacquesson, Pierre Breton, Ali

Mojallal, Fabien Boucher, Hristo Shipkov, Joseph Chateau ;

Microbiologistes – Frédéric Laurent, François Vandenesch, Jean-Philippe Rasigade, Sophie Trouillet-Assant, Céline Dupieux ;

Médecins nucléaires – Isabelle Morelec, Marc Janier, Francesco Giammarile ;

Pharmaciens spécialisés dans le PK/PD – Michel Tod, Marie-Claude Gagnieu, Sylvain Goutelle ;

Assistante de Recherche Clinique – Eugénie Mabrut

Références

- [1] www.sante.gouv.fr/infections-osteo-articulaires-ioa.html
- [2] Peltola H, Pääkkönen M. Acute osteomyelitis in children. *N Engl J Med* 2014;370(4):352-60
- [3] Dohin B, Gillet Y, Kohler R, et al. Pediatric bone and joint infections caused by Panton-Valentine leukocidin-positive *S. aureus*. *Pediatr Infect Dis J* 2007;26(11):1042-8
- [4] www.has-sante.fr/portail/jcms/c_1228574/fr/prothese-de-hanche-ou-de-genou-diagnostic-et-prise-en-charge-de-l-infection-dans-le-mois-suivant-limplantation
- [5] la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF); Collège des Universitaires de Maladies Infectieuses et Tropicales (CMIT); Groupe de Pathologie Infectieuse Pédiatrique (GPIP); Société Française d'Anesthésie et de Réanimation (SFAR); Société Française de Chirurgie Orthopédique et Traumatologique (SOFOT); Société Française d'Hygiène Hospitalière (SFHH); Société Française de Médecine Nucléaire (SFMN); Société Française de Médecine Physique et de Réadaptation (SOFMER); Société Française de Microbiologie (SFM); Société Française de Radiologie (SFR-Rad); Société Française de Rhumatologie (SFR-Rhu). [Clinical practice recommendations. Osteoarticular infections on materials (prosthesis, implant, osteosynthesis)]. *Med Mal Infect* 2009;39(11):815-63
- [6] Osmon DR, Berbari EF, Berendt AR, et al.; Infectious Diseases Society of America. Diagnosis and management of prosthetic joint infection: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2013;56(1):e1-e25
- [7] Lora-Tamayo J, Murillo O, Iribarren JA, et al.; REIPI Group for the Study of Prosthetic Infection. A large multicenter study of methicillin-susceptible and methicillin-resistant *S. aureus* prosthetic joint infections managed with implant retention. *Clin Infect Dis* 2013;56(2):182-94
- [8] Font-Vizcarra L, García S, Bori G, et al. Long-term results of acute prosthetic joint infection treated with debridement and prosthesis retention: a case-control study. *Int J Artif Organs* 2012;35(10):908-12
- [9] Rodríguez-Pardo D, Pigrau C, Lora-Tamayo J, et al.; REIPI Group for the Study of Prosthetic Infection. Gram-negative prosthetic joint infection: outcome of a debridement, antibiotics and implant retention approach. A large multicentre study. *Clin Microbiol Infect* 2014;20(11):O911-9
- [10] Marculescu CE, Berbari EF, Hanssen AD, et al. Outcome of prosthetic joint infections treated with debridement and retention of components. *Clin Infect Dis* 2006;42(4):471-8
- [11] Bernard L, Dinh A, Ghout I, et al.; Duration of Treatment for Spondylodiscitis (DTS) study group. Antibiotic treatment for 6 weeks versus 12 weeks in patients with pyogenic vertebral osteomyelitis: an open-label, non-inferiority, randomised, controlled trial. *Lancet* 2015;385(9971):875-82
- [12] Trouillet-Assant S, Gallet M, Nauroy P, Rasigade JP, Flammier S, Parroche P, Marvel J, Ferry T, Vandenesch F, Jurdic P, Laurent F. Dual impact of live *S. aureus* on the osteoclast lineage, leading to increased bone resorption. *J Infect Dis*. 2015 Feb 15;211(4):571-81
- [13] Valour F, Karsenty J, Bouaziz A, et al.; Lyon BJI Study Group. Antimicrobial-related severe adverse events during treatment of bone and joint infection due to methicillin-susceptible *S. aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58(2):746-55
- [14] Management strategies of prosthetic joint infections of the hip. Viste A, Robin J, Laurent F, et al. *Minerva Orthop Traumatol* 2014;65:243-9

QCM Évaluez-vous !

Ceci est un questionnaire à choix multiples.
Par conséquent, il est possible que certaines questions
puissent bénéficier de plusieurs réponses possibles.
Dans ce cas, il s'agit de les cocher toutes.

1 Quelle(s) voie(s) d'entrée est(sont) principalement identifiée(s) comme favorisant les infections ostéo-articulaires ?

- ☐ A. Par effraction cutanée
- ☐ B. Par contiguïté d'un foyer septique
- ☐ C. Par voie hématogène
- ☐ D. Par voie nasale
- ☐ E. Par voie vaginale

2 Parmi ces affirmations, la(les)quelle(s) est(sont) vraie(s) ?

- ☐ A. Tous les os peuvent être atteints au cours des infections ostéo-articulaires
- ☐ B. Les os longs sont principalement affectés au cours des infections ostéo-articulaires
- ☐ C. Les infections ostéo-articulaires surviennent majoritairement au niveau des membres inférieurs
- ☐ D. L'ostéomyélite aiguë cible principalement la métaphyse osseuse
- ☐ E. L'arthrite septique touche la chondro-épiphyse

3 Parmi ces facteurs, lesquelles favorisent les infections ostéo-articulaires ?

- ☐ A. la corticothérapie prolongée
- ☐ B. le diabète sucré
- ☐ C. l'éthylisme chronique
- ☐ D. l'inoculum bactérien
- ☐ E. la virulence du microorganisme

4 Parmi ces affirmations concernant les spondylodiscites, la(les)quelle(s) est(sont) vraie(s) ?

- ☐ A. L'atteinte cervicale est fréquente au cours de la spondylodiscite infectieuse
- ☐ B. L'atteinte de plusieurs segments vertébraux est plus fréquente au cours des spondylodiscites tuberculeuses
- ☐ C. Chez l'enfant la contamination hématogène est moins fréquente au cours des spondylodiscites
- ☐ D. Les spondylodiscites sont en général monomicrobiennes
- ☐ E. Les infections urinaires peuvent être à l'origine des spondylodiscites

5 Concernant l'épidémiologie des IOA staphylococciques, quelles sont les propositions vraies :

- ☐ A. Le genre *Staphylococcus* est responsable de 10 % des cas d'IOA toutes causes confondues.

- ☐ B. Les staphylocoques à coagulase négative (SCN) ne sont jamais responsables d'arthrite septique.
- ☐ C. *S. aureus* est plus fréquemment responsable d'IOA sur matériel prothétique que les SCN.
- ☐ D. *S. lugdunensis* est le SCN le plus prévalent dans les IOA sur matériel prothétique.
- ☐ E. *S. epidermidis* est le SCN le plus prévalent dans les IOA toutes causes confondues.

6 A propos de l'influence de l'infection staphylococcique sur le remodelage osseux :

- ☐ A. La perte osseuse est principalement liée à l'acidification et à la nécrose des tissus infectés.
- ☐ B. La perte osseuse est liée à l'excès d'activité des ostéoblastes infectés.
- ☐ C. La réponse inflammatoire locale active les ostéoclastes.
- ☐ D. Les ostéoblastes infectés participent à l'activation des ostéoclastes.
- ☐ E. Les ostéoblastes infectés produisent une réponse inflammatoire du fait de leur origine myéloïde.

7 Les *small colony variants* de *S. aureus* au cours de l'infection osseuse :

- ☐ A. Possèdent une résistance caractéristique aux fluoroquinolones par mutation du gène *gyrA*.
- ☐ B. Présentent une baisse de sensibilité aux glycopeptides par ralentissement du temps de doublement.
- ☐ C. Présentent une baisse de sensibilité aux aminosides par perte des systèmes membranaires de transport d'électrons.
- ☐ D. Présentent un aspect dépigmenté et un halo d'hémolyse élargi.
- ☐ E. Peuvent être confondus avec des SCN si l'identification est réalisée par spectrométrie de masse.

8 Parmi les bactéries suivantes, laquelle est la première cause d'arthrites septiques chez les enfants de moins de 4 ans ?

- ☐ A. *Escherichia coli*
- ☐ B. *Kingella kingae*
- ☐ C. *Staphylococcus epidermidis*
- ☐ D. *Staphylococcus aureus*
- ☐ E. Streptocoque du groupe A

9

Parmi les affirmations suivantes, la(les)quelle(s) est(sont) exacte(s) ?

- ☐ A. Les souches d'*E. coli* isolées d'infections ostéo-articulaires ont les mêmes caractéristiques de virulence que les souches d'*E. coli* isolées d'infections urinaires
- ☐ B. L'alpha-hémolysine HlyA pourrait jouer un rôle majeur dans la pathogenèse des infections ostéo-articulaires à *E. coli*
- ☐ C. Les infections ostéo-articulaires à *E. cloacae* sont relativement fréquentes
- ☐ D. La capacité de *P. aeruginosa* à former du biofilm est un facteur aggravant dans la prise en charge d'infections ostéo-articulaires secondaires à ce pathogène
- ☐ E. Les infections ostéo-articulaires à bactéries anaérobies sont classiquement monomicrobiennes

10

Parmi les affirmations suivantes, la(les)quelle(s) est(sont) exacte(s) ?

- ☐ A. L'amoxicilline est le traitement de choix des infections ostéo-articulaires à *K. kingae*
- ☐ B. L'association cefotaxime-fluoroquinolone est le traitement recommandé au cours des infections ostéo-articulaires à entérobactéries
- ☐ C. La ciprofloxacine est la fluoroquinolone de choix lors de traitement d'infections ostéo-articulaires à BGN
- ☐ D. Le dépistage de porteur de *K. kingae* par écouvillonnage buccal permet de prévenir les infections ostéo-articulaires chez l'enfant
- ☐ E. Le dépistage de signes cliniques d'infection urinaire à *E. coli* est indispensable avant une chirurgie prothétique orthopédique

11

Parmi ces affirmations, la(les)quelle(s) est(sont) exacte(s) ?

- ☐ A. Les prélèvements des infections ostéo-articulaires doivent être profonds et réalisés dans des conditions d'asepsie
- ☐ B. Les prélèvements des infections ostéo-articulaires peuvent être réalisés chez un patient sous traitement antibiotique sans perturber leur interprétation
- ☐ C. La réalisation de 8 prélèvements au bloc opératoire facilite l'interprétation des résultats de culture et la discrimination entre une contamination et une infection
- ☐ D. L'écouvillonnage d'une cicatrice en regard d'une prothèse reflète l'écologie des bactéries responsables de l'infection de ce matériel
- ☐ E. Des biopsies percutanées peuvent être réalisées en cas d'atteinte vertébrale

12

Parmi ces affirmations, la(les)quelle(s) est(sont) exacte(s) ?

- ☐ A. Les liquides de drainage n'ont pas de place dans le diagnostic des infections ostéo-articulaires
- ☐ B. Une prothèse doit être systématiquement adressée au laboratoire de bactériologie pour analyse
- ☐ C. La réalisation d'hémocultures doit être systématique en cas de fièvre associée à une infection ostéo-articulaire
- ☐ D. Les hémocultures sont une aide au diagnostic lorsque les prélèvements ostéo-articulaires restent négatifs
- ☐ E. L'acheminement des prélèvements réalisés au cours d'une infection ostéo-articulaire nécessite des milieux de transport

13

Parmi ces affirmations, laquelle est exacte ?

- ☐ A. Les prélèvements réalisés au cours d'une infection ostéo-articulaire doivent être manipulés sous hotte à flux laminaire type PSM II dans un laboratoire NSB3
- ☐ B. La sonication est la technique de référence avant la mise en culture des prélèvements réalisés au cours d'une infection ostéo-articulaire
- ☐ C. La congélation des prélèvements réalisés au cours d'une infection ostéo-articulaire doit être réalisé
- ☐ D. L'incubation des prélèvements réalisés au cours d'une infection ostéo-articulaire est d'un mois

14

Parmi ces affirmations, la(les)quelle(s) est(sont) exacte(s) ?

- ☐ A. Les techniques de biologie moléculaire présentent une sensibilité bien meilleure que la culture bactérienne permettant d'envisager leur utilisation au dépens de la culture bactérienne lors d'infection ostéo-articulaire
- ☐ B. Les techniques de biologie moléculaire doivent être réalisés en première intention lors de la réception de prélèvements réalisés au cours d'une infection ostéo-articulaire
- ☐ C. Les techniques de biologie moléculaire utilisent des PCR spécifiques ciblant des gènes présents dans les pathogènes recherchés
- ☐ D. Les résultats d'analyses par biologie moléculaire peuvent être négatif en cas de faible inoculum

15

Les ostéites de pied sont :

- ☐ A. monomicrobiennes
- ☐ B. polymicrobiennes
- ☐ C. très fréquentes chez les diabétiques
- ☐ D. responsables d'amputation
- ☐ E. plus sévères lorsqu'un *S. aureus* méticillinorésistant est isolé

16 La biopsie osseuse:

- ☐ A. est l'examen de choix lors de suspicion d'ostéite du pied chez le diabétique
- ☐ B. est réalisable uniquement au bloc opératoire
- ☐ C. doit être réalisée en passant par la plaie après débridement
- ☐ D. peut être radioguidée
- ☐ E. consiste en 8 prélèvements au niveau de la zone suspecte

17 Parmi ces bactéries, laquelle est la plus fréquemment isolée d'ostéite de plaie du pied chez le diabétique?

- | | |
|---|---|
| ☐ A. <i>Bacteroides fragilis</i> | ☐ D. <i>Staphylococcus aureus</i> |
| ☐ B. <i>Escherichia coli</i> | |
| ☐ C. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | ☐ E. <i>Staphylococcus epidermidis</i> |

18 Parmi les affirmations suivantes concernant les centres de références des infections ostéo-articulaires complexes (CRIOAc), la(les) quelle(s) est(sont) exacte(s)?

- ☐ A. Les CRIOAc sont un réseau de professionnels spécialisés dans la prise en charge multidisciplinaire des infections ostéo-articulaires complexes
- ☐ B. Il existe 9 CRIOAc en France associés à 15 centres correspondant
- ☐ C. La prise en charge d'un patient présentant une infection ostéo-articulaire en CRIOAc est essentiellement fonction du microorganisme responsable de l'infection
- ☐ D. La prise en charge en CRIOAc ne concerne que les échecs d'une première prise en charge d'un patient présentant une infection ostéo-articulaire

19 Parmi les affirmations suivantes, la(les) quelle(s) est(sont) exacte(s)?

- ☐ A. Le traitement antibiotique varie en fonction du caractère aigu ou chronique de l'infection ostéo-articulaire
- ☐ B. Le traitement antibiotique est fonction de la stratégie chirurgicale mise en place
- ☐ C. Le traitement antibiotique nécessite une réunion de concertation pluridisciplinaire
- ☐ D. Le traitement antibiotique doit être administré après un prélèvement à visée bactériologique
- ☐ E. Le traitement antibiotique tient compte de l'âge du patient car la diffusion des antibiotiques dans le tissu osseux est différente entre enfant et adulte

20 Parmi les affirmations suivantes concernant les ostéomyélites aiguës, la(les)quelle(s) est(sont) exacte(s)?

- ☐ A. Les ostéomyélites aiguës correspondent à une atteinte hémotogène de la médullaire osseuse
- ☐ B. Les ostéomyélites aiguës associent une boiterie brutale avec une fièvre
- ☐ C. Les ostéomyélites aiguës atteignent préférentiellement l'épiphyse des os courts
- ☐ D. Les hémocultures sont l'examen de référence pour le diagnostic des ostéomyélites aiguës
- ☐ E. Le traitement de première intention lors des ostéomyélites aiguës est l'association fluoroquinolone-rifampicine

RÉPONSES AUX QUESTIONS

Voir en première page de la rubrique
Entreprise Labo, page 84

Les fièvres hémorragiques virales

Pierre Tattevin^a, Gisèle Lagathu^b, Matthieu Revest^a, Christian Michelet^a

RÉSUMÉ

Les fièvres hémorragiques virales regroupent plusieurs viroses, potentiellement graves, avec un tableau clinique relativement stéréotypé, d'évolution biphasique. Après une incubation de 2 à 21 jours, apparition d'un syndrome pseudo-grippal qui évolue au bout de quelques jours, de manière imprévisible, chez une proportion variable de patients, vers un syndrome hémorragique avec choc. La transmission interhumaine s'effectue le plus souvent par contacts avec des liquides biologiques, surtout en présence de sang. La biologie de ces virus, leur épidémiologie et leur létalité sont très variables. Pour toutes ces fièvres hémorragiques virales, l'importance d'un diagnostic rapide réside plus dans la nécessité d'interrompre les chaînes de transmission que dans les possibilités thérapeutiques, limitées aux traitements symptomatiques, à l'exception notable de la fièvre de Lassa (efficacité probable de la ribavirine).

Fièvre de Lassa – fièvre de la Vallée du Rift – fièvre de Marburg – Ebola – fièvre hémorragique Crimée-Congo.

1. Généralités

Les fièvres hémorragiques virales forment un groupe de maladies virales hétérogènes, regroupées de manière syndromique afin de faciliter la démarche diagnostique face à un cas suspect. Le tableau classique comporte, à des degrés divers, une fièvre, des signes hémorragiques et une défaillance circulatoire. Ces maladies se caractérisent en général par une évolution biphasique, avec une première phase de quelques jours dominée par un syndrome pseudo-grippal sans spécificité, puis une seconde phase souvent rapidement évolutive marquée par des signes hémorragiques diffus parfois impressionnants : hémorragies cutanées ou cutanéomuqueuses rapidement extensives, suffusions hémorragiques en regard de points de ponction même anciens, et hémorragies viscérales souvent fatales (hématémèse, épistaxis, hémoptysies, rectorragies, etc.). Un état de choc multi-factoriel accompagne souvent ces phases hémorragiques. Il est très difficile de distinguer les différentes fièvres hémorragiques virales d'après la présentation clinique, même si certaines particularités méritent d'être signalées (prédominance des signes digestifs avec Ebola, atteinte ophtalmologique au cours de la fièvre de la Vallée du Rift, rhabdomyolyse au cours de la fièvre Crimée-Congo).

^a Maladies Infectieuses et Réanimation Médicale
CHU Pontchaillou, Rue Louis Guilloux, 35000 Rennes, France

^b Virologie
CHU Pontchaillou, Rue Louis Guilloux, 35000 Rennes, France

*Correspondance :
pierre.tattevin@chu-rennes.fr

article reçu le 12 août, accepté le 10 septembre 2015
© 2016 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

SUMMARY

Viral Haemorrhagic fever

Viral haemorrhagic fevers are characterized by similar clinical manifestations, with a biphasic course : After a 2-21 day-incubation, onset of an influenza-like illness, that will drive to an haemorrhagic syndrome with shock, in a subgroup of patients, unpredictable. Human-to-human transmission mostly occurs through contact with biological fluids, especially if contaminated with blood. The biology, the epidemiology and the letality of these viruses differ. For all these viral haemorrhagic fevers, the importance of an early diagnosis relies mostly in the need to interrupt human-to-human transmission, as therapeutic options are mostly restricted to symptomatic treatment, with the exception of Lassa fever (ribavirin probably effective).

Lassa fever – Rift valley fever – Marburg fever – Ebola – Crimean-Congo haemorrhagic fever.

En général, la nature du virus responsable est soupçonnée d'après la provenance du patient, en fonction des zones d'endémies/d'épidémies, qui sont évolutives. Les virus responsables de ces syndromes sont tous des virus à ARN simple brin, possédant une enveloppe lipidique, mais leurs morphologies sont très différentes et ils sont issus de familles bien distinctes (**tableau I**). Dans cette mise au point, après un bref rappel des principes de prise en charge d'une suspicion de fièvre hémorragique virale importée en France, nous détaillerons les caractéristiques virologiques, épidémiologiques et cliniques des viroses Ebola, Marburg, Lassa, Crimée-Congo et Fièvre de la vallée du Rift, qui sont celles qui présentent la plus forte probabilité d'être importées en France. Les Flavivirus (fièvre jaune, dengue hémorragique) ne seront pas abordés dans cette revue.

2. Prise en charge d'une suspicion de fièvre hémorragique virale importée en France

Devant la sévérité des épidémies de fièvres Ebola ou Marburg en Afrique, les antécédents d'importation de ces pathogènes dans d'autres pays d'Europe ou d'Amérique du Nord, et la transmission nosocomiale parfois au premier plan lors des épidémies, le Conseil supérieur d'hygiène publique de France avait émis en 2002 un rapport intitulé *Infections virales aiguës importées hautement contagieuses et leur prise en charge* (<http://editions.ensp.fr>).

Tableau I : Caractéristiques des fièvres hémorragiques virales

Famille	Filoviridae		Arenaviridae			Bunyaviridae	
Genre	Filovirus (figure 1)	Filovirus	Complexe Tacaribe	Complexe Tacaribe	complexe LCMV/ Lassa	Nairovirus	Phlébovirus
Nom	Ebola	Marburg	Junin	Machupo	Lassa	Crimée-Congo	Vallée du Rift
Géographie	Afrique (figure 2)	Afrique (figure 3)	Amérique du Sud	Amérique du Sud	Afrique de l'Ouest (figure 4)	Afrique, Asie centrale, Europe, Moyen Orient (figure 5)	Afrique, Yémen, Arabie Saoudite (figure 6)
Réservoir	Chauves- souris, singes	Chauves- souris, singes	Rongeurs (<i>Mastomys natalensis</i>)	Rongeurs	Rongeurs	Vertébrés domestiques et sauvages	Ruminants
Vecteur	Non	Non	Non	Non	Non	Tiques (<i>Hyalomma</i>)	Moustiques (<i>Aedes</i> sp.)
Incubation (jours)	2-21	2-21	7-14	9-15	5-21	3-14	2-6
Début	Brutal	Brutal	Progressif	Progressif	Progressif	Progressif	Brutal
Particularités	Létalité (40-90 %) Bouffées épidémiques	Létalité (30-90 %) Bouffées épidémiques	Encéphalites	Encéphalites	Rareté de la thrombopénie Létalité faible (1-2 %)	Létalité 30-50 %	Létalité < 10 % Atteintes oculaires
Traitement antiviral	Aucun d'efficacité démonstrée	Aucun	Ribavirine	?	Ribavirine	Ribavirine sans doute inefficace	Ribavirine

Ce rapport a été rédigé alors qu'aucun cas de fièvre hémorragique virale n'avait été importé en France, mais il était prévu une révision de ce rapport en fonction de l'expérience acquise au fil des années, notamment lorsque cette situation serait rencontrée, sur le principe des retours d'expérience. Le diagnostic à Rennes, en 2004, d'une fièvre hémorragique Crimée-Congo importée, avait été une « première » [1, 2], mais c'est avec l'épidémie « Ebola » en Afrique de l'Ouest en 2014, que la France a mené une réflexion en profondeur sur les modalités d'accueil des patients suspects de fièvre hémorragique virale et leur prise en charge clinico-biologique.

Les grands principes qui ont guidé les différentes recommandations de prise en charge de ces cas suspects découlent des règles suivantes : i) la transmission inter-humaine des fièvres hémorragiques virales s'effectue par contact avec du sang ou des liquides biologiques contaminés dans l'immense majorité des cas (seule la fièvre de Lassa peut se transmettre par voie respiratoire, parmi celles qui sont détaillées ici) ; ii) la co-existence de signes hémorragiques et d'une virémie élevée rend ce risque majeur chez les patients les plus graves ; iii) les mesures de protection des soignants, certes indispensables, ne doivent pas représenter une perte de chance pour les patients suspects de fièvre hémorragique virale. Ce dernier point est d'autant plus important que ces patients « suspects » sont, le plus souvent, atteints d'une autre pathologie infectieuse pour laquelle le retard de prise en charge peut engager le pronostic (accès palustre, sepsis grave, etc.).

Le risque d'importation des virus responsables de fièvre hémorragique est différent selon le type de virus, le temps d'incubation et la rapidité d'installation des signes hémorragiques. Il faut savoir évoquer une fièvre hémorragique

virale devant tout patient présentant une fièvre et des signes hémorragiques dans les trois semaines qui suivent un séjour à l'étranger dans un pays « à risque ». Malheureusement, la multiplicité des zones géographiques dans lesquelles des cas de fièvre hémorragique ont été rapportés ces dernières années et l'accélération du rythme des alertes liées aux maladies infectieuses émergentes ne permettent pas de proposer une liste restrictive des zones à risque : celle-ci serait rapidement périmée. Par contre, en cas de suspicion, le contact téléphonique direct et immédiat avec le centre national de référence (CNR) des fièvres hémorragiques virales est hautement recommandé, car il permet de confronter le tableau clinique et la provenance du patient aux données récentes concernant la répartition des fièvres hémorragiques virales. De plus, si le doute persiste, ce contact permet d'organiser un acheminement et une analyse rapide des prélèvements. Les coordonnées du CNR figurent sur le site : <http://www.pasteur.fr/fr/recherche/virologie/unites-et-groupes/biologie-infections-virales-emergentes>

3. La maladie virale Ebola

Les virus Ebola et Marburg appartiennent à la famille des Filoviridae, genre Filovirus et sont parmi les pathogènes les plus virulents pour l'homme et les grands singes. Leur aspect en microscopie électronique est très caractéristique avec un aspect de longs filaments (figure 1). Il s'agit de virus enveloppés, fragiles avec une persistance dans l'environnement pouvant aller de quelques heures à quelques jours sur support solide. La concentration virale dans les fluides biologiques est très élevée : 10^7 unités/ml de sang. Le virus Ebola compte 5 espèces distinctes

illustrant la diversité de ce virus : i) Ebolavirus Bundibugyo (BEBOV), Ebola Zaïre (ZEBOV), Ebolavirus Reston (REBOV), Ebolavirus Soudan (SEBOV), Ebolavirus Taï Forest (CIEBOV). Seules les espèces Zaïre et Soudan sont responsables d'importantes flambées épidémiques en Afrique.

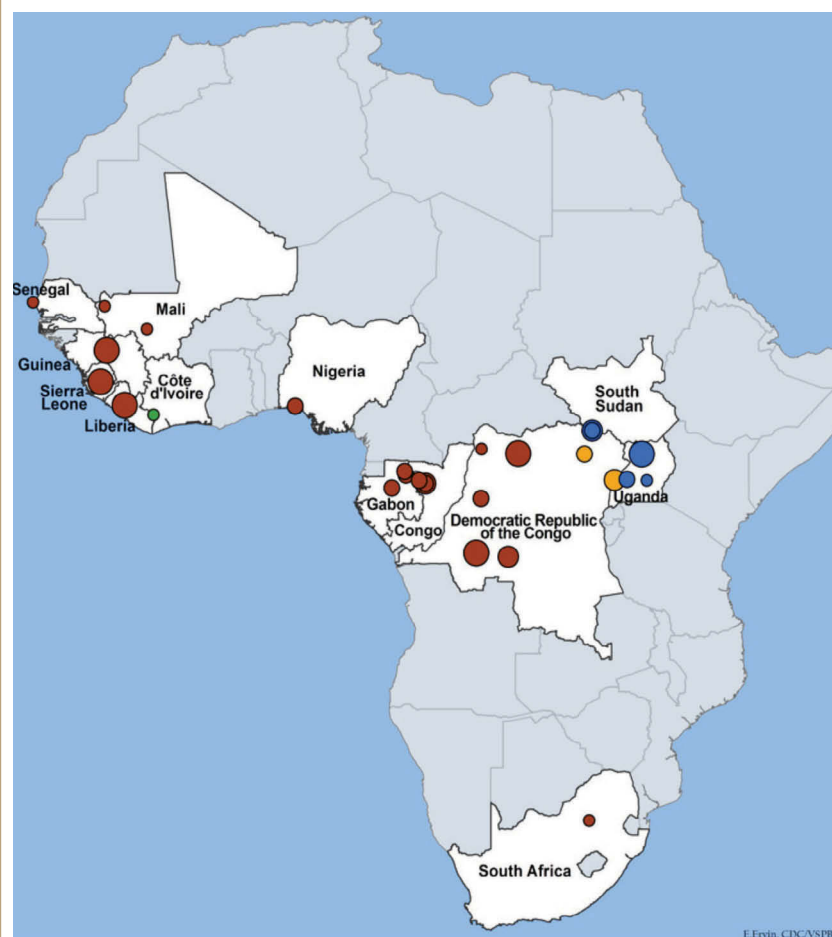
Le virus Ebola aura été sans conteste le pathogène vedette des années 2014-2015, avec plus de 28 000 cas cette année-là, dont plus de 11 000 sont décédés (létalité estimée à 40 %) selon les chiffres officiels de l'OMS, très probablement sous-estimés [3]. Le personnel soignant a payé un lourd tribut lors de cette épidémie avec 881 cas dont 531 décès (létalité à 60 %). Les premières épidémies de fièvres Ebola ont été rapportées lors de 2 flambées épidémiques successives en République Démocratique du Congo (au bord de la rivière « Ebola », qui traverse la ville de Yambuku) en 1976, puis au Soudan, et en Ouganda en 1977. Par la suite, de multiples épidémies ponctuelles, sans facteur déclenchant évident, ont été observées, le plus souvent dans des zones rurales d'Afrique Centrale (**figure 2**). Les caractéristiques de ces épidémies étaient relativement superposables, avec une fièvre quasi-constante ($> 38,3^{\circ}\text{C}$ dans plus de 99 % des cas), une évolution biphasique (syndrome pseudo-grippal initial, évoluant brutalement vers une forme hémorragique au bout de quelques jours chez une partie des patients, sans qu'on puisse réellement prédire lesquels), et une létalité comprise entre 50 et 70 %. Les modalités d'acquisition du virus par le cas index de ces épidémies ne sont jamais parfaitement élucidées *a posteriori*, mais font très probablement intervenir un contact avec un des réservoirs (primates non humains et chauves-souris frugivores). Au décours, les catalyseurs de ces épidémies reposent sur une transmission inter-humaine par contact direct *via* les soins prodigués aux patients en phase hémorragique (transmission aux soignants et à l'entourage), ainsi que les pratiques funéraires non protégées [4, 5]. Il n'existe aucune donnée scientifique suggérant la possibilité d'une transmission par

Figure 1. Virus Ebola en microscopie électronique.

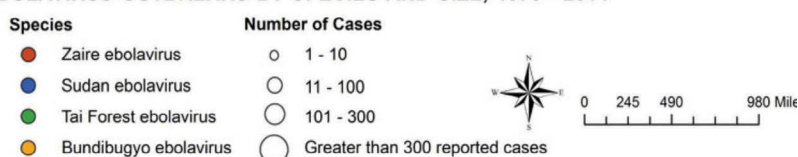


Source: REUTERS/Cynthia Goldsmith/CDC/Handout, <http://www.cdc.gov>

Figure 2 – Les épidémies « Ebola » de 1976 à 2015.



EBOLAVIRUS OUTBREAKS BY SPECIES AND SIZE, 1976 - 2014



D'après Centers for Disease Control and prevention, <http://www.cdc.gov>

voie respiratoire, mais tous les liquides biologiques doivent être considérés comme contaminants en phase hémorragique, compte tenu de la forte virémie documentée à ce stade, qui se traduit par la possibilité d'isoler du virus dans tous les liquides potentiellement contaminés par du sang, même en faible quantité. La transmission inter-humaine ne peut avoir lieu qu'à partir de patients symptomatiques, à l'exception notable de la transmission sexuelle. En effet, le virus Ebola peut être isolé dans les sécrétions génitales des patients convalescents pendant au moins 3 mois, avec des cas documentés de transmission sexuelle très probable, à distance de la maladie.

Une fois reconnues, et au prix d'interventions parfois musclées d'organisations internationales ou nationales, toutes les épidémies des années 1976-2013 ont pu être interrompues au bout de quelques semaines, essentiellement par la mise en place de mesures de prévention de la transmission inter-humaine pré- et post-mortem, en l'absence de traitement préventif ou curatif [6, 7]. De 1976 à 2013, on estime qu'environ 1 500 personnes au total sont décédées de la maladie Ebola, l'épidémie la plus importante ayant affecté 425 patients.

Lorsque les équipes de Médecins Sans Frontières, en collaboration avec le gouvernement Guinéen et l'OMS, ont signalé en mars 2014 l'existence d'une épidémie d'Ebola en Guinée-Konakry, il n'y avait pas de raison majeure de penser que cette épidémie allait se démarquer aussi nettement des précédentes [8]. De fait, les courbes d'incidence des cas d'Ebola ont initialement suivi l'évolution classique, avec une nette tendance à la diminution à partir de mi-avril. Cependant, en quelques semaines, l'épidémie a redoublé d'intensité et s'est alors rapidement étendue à l'ensemble du territoire Guinéen et à 2 pays voisins (Sierra Leone et Libéria), jusqu'à être déclarée « hors de contrôle » par MSF, motivant une alerte de l'OMS en août 2014, suivie d'une mobilisation majeure de l'aide internationale, financière, matérielle et humaine, reposant principalement sur le tri et l'isolement précoce des patients dans des centres dédiés et la sécurisation des enterrements, permettant un fléchissement très spectaculaire de la transmission inter-humaine, même si une transmission active a persisté, à bas bruit, dans ces 3 pays, avec quelques nouveaux cas diagnostiqués chaque semaine jusqu'à l'été 2015. En France, plus de 250 cas suspects d'Ebola ont été signalés entre le printemps 2014 et le printemps 2015, en général sur la notion d'une fièvre > 38 °C apparue moins de 21 jours après un séjour en zone d'épidémie (essentiellement, Libéria, Guinée et Sierra Leone). Aucun diagnostic d'Ebola n'a été posé en France au cours de cette épidémie, mais 2 patients présentant une maladie Ebola documentée en Guinée et en Sierra Leone ont été rapatriés à l'Hôpital Bégin, où ils ont tous les 2 guéris, sans transmission secondaire. D'autres pays industrialisés ont connu moins de succès, avec des décès et des transmissions autochtones, notamment l'Espagne et les États-Unis. Ces évolutions défavorables dans des pays disposant de moyens comparables à la France illustrent bien la virulence et les capacités de transmission de ce virus, et impliquent que la vigilance reste de mise. Compte-tenu de la rapidité d'évolution des informations et des procédures dans ce domaine, nous ne les détaillons pas dans ce chapitre, en invitant le lecteur

à consulter le site de l'Institut de Veille Sanitaire (<http://www.invs.sante.fr>) et celui de la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF, <http://www.infec-tiologie.com>), notamment l'onglet « COREB ». Les critères diagnostiques [9], et les traitements [10], ont fait l'objet de mises au point. Pour les cliniciens amenés à prendre en charge ces cas suspects ou avérés, les principaux messages sont : i) la suspicion d'Ebola ne doit pas représenter une perte de chance pour les patients (les diagnostics de paludisme ou de sepsis grave d'origine bactérienne, nettement plus fréquents, doivent être systématiquement évoqués et traités empiriquement le cas échéant) ; ii) le traitement symptomatique et la compensation des défaillances sont indispensables et nécessitent souvent une réanimation intensive (cf. > 10 L de pertes digestives quotidiennes dans certaines observations), malgré la lourdeur des procédures visant à assurer l'absence de transmission inter-humaine et la protection des soignants.

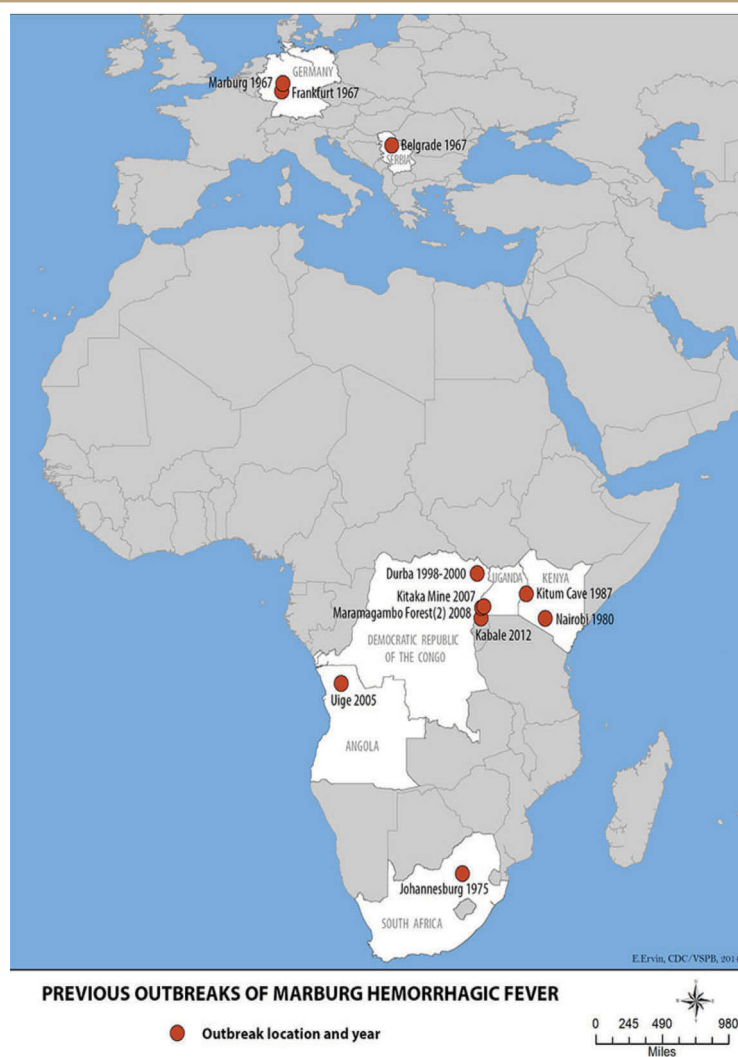
4. La Fièvre de Marburg

Les virus responsables de la maladie virale Ebola et de la fièvre de Marburg étant très proches, les caractéristiques de ces 2 maladies sont similaires en termes de modalités de transmission, de dynamique des épidémies, de présentation clinique, de pronostic et de traitement. Le virus responsable de la fièvre de Marburg a été découvert à l'occasion d'une épidémie survenue en Europe en 1967 au sein d'équipes de chercheurs qui travaillaient sur des prélèvements biologiques de singes verts africains (*Cercopithecus aethiops*) importés d'Ouganda [11]. Cette première épidémie a été responsable de 7 décès (sur 31 cas), en Allemagne (Marburg, Francfort) et en Serbie (Belgrade). Outre les cas acquis par contact direct avec les prélèvements contaminés, 6 cas secondaires ont été rapportés (soignants, ou partenaires des cas index), ce qui illustre déjà le risque de transmission inter-humaine, y compris en Europe. Par la suite, plusieurs épidémies ont été rapportées (figure 3), la plus sévère en Angola en 2004-2005, avec une létalité de 88 % (329 décès) (6, 7).

5. La Fièvre de Lassa

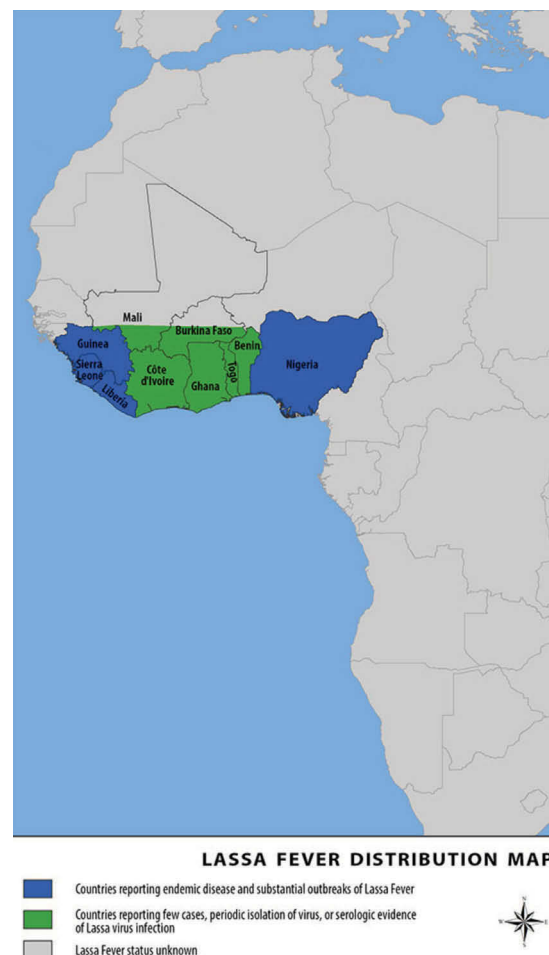
La fièvre de Lassa est causée par un arénavirus, le virus Lassa. On distingue au sein des arénavirus 2 grands complexes selon leur répartition géographique : i) le complexe dit « de l'ancien monde » ou complexe LCML/Lassa (LCML = Chorioméningite lymphocytaire) ; ii) le complexe américain ou « complexe Tacaribe » regroupant des virus responsables de fièvres virales hémorragiques sur le continent américain : virus Junin (Argentine), Machupo (Bolivie) et Guanarito pour le Venezuela. Il s'agit de virus enveloppés, transmis *via* les excréta de rongeurs largement infectés (taux d'infection jusqu'à 80 %), directement à la population humaine en contact étroit avec ces animaux au sein des villages. Des transmissions nosocomiales sont possibles par contacts avec les fluides biologiques voire par aérosols. Les premiers cas documentés de fièvre de Lassa remontent à l'année 1969, avec le décès de 2 infirmières missionnaires dans la ville de Lassa, au Nigéria. La fièvre de Lassa est

Figure 3 – Les épidémies « Marburg » de 1967 à 2012.



D'après Centers for Disease Control and prevention, <http://www.cdc.gov>

Figure 4 – Répartition géographique de la fièvre de Lassa.



D'après Centers for Disease Control and prevention, <http://www.cdc.gov>

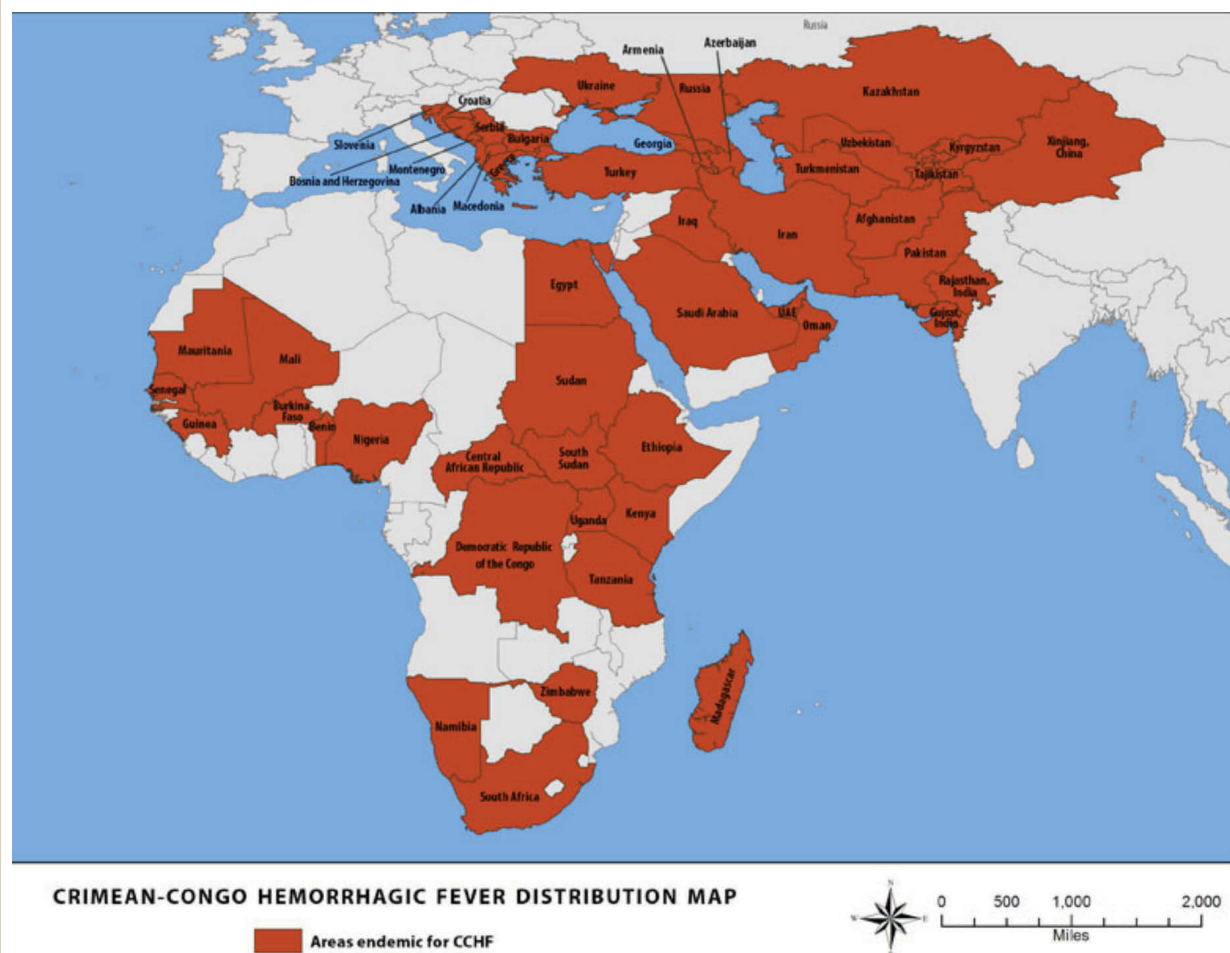
une maladie fréquente, puisqu'on estime que 100 000 à 300 000 cas surviendraient chaque année en Afrique de l'Ouest [12]. C'est également la fièvre hémorragique virale la plus souvent importée en Europe et aux États-Unis (au moins 29 cas documentés à ce jour, dont 1/3 sont décédés), la seule pour laquelle une transmission respiratoire semble plausible, et celle pour laquelle on dispose d'un antiviral actif : la ribavirine. Le réservoir est un rongeur péri-domestique (*Mastomys natalensis*), et les zones endémiques sont, d'une part la triade Guinée-Sierra Leone-Libéria (région de la *Mano river*), et d'autre part le Nigéria (figure 4). Entre ces 2 zones, notamment au sud du Mali et du Burkina Faso, ainsi qu'en Côte d'Ivoire, au Ghana, au Bénin et au Togo, des cas sporadiques sont rapportés, et le virus a pu être isolé chez les rongeurs. Des données récentes suggèrent que le virus de la fièvre de Lassa serait présent dans une zone nettement plus étendue, mais resterait méconnu du fait de la forte proportion de cas asymptomatiques, et de l'absence de moyens affectés à la surveillance de ce virus [13]. Du fait de sa large répartition en Afrique de l'Ouest où

elle est endémique, la fièvre de Lassa constitue un diagnostic différentiel à la maladie virale Ebola. Cependant, si la fièvre de Lassa peut indiscutablement se présenter comme une fièvre hémorragique virale sévère, avec un tableau biphasique très proche des fièvres Ebola ou Marburg, les formes asymptomatiques ou pauci-symptomatiques prédominent nettement, et la létalité globale est < 2 %.

6. La Fièvre hémorragique Crimée-Congo

La virus Crimée-Congo est un nairovirus largement répandu et transmis par des tiques qui constituent un véritable réservoir de ce virus compte-tenu de sa transmission trans-ovarienne chez les tiques. L'homme n'est qu'un hôte accidentel dans ce cycle et est le seul mammifère à développer la maladie. La contamination peut se faire directement au décours de la piqûre par une tique ou indirectement par contact avec le sang ou les viscères

Figure 5 – Répartition géographique de la fièvre hémorragique Crimée-Congo.



D'après Centers for Disease Control and prevention, <http://www.cdc.gov>

des animaux infectés. Selon le mode de contamination, l'incubation varie de 2-5 jours (inoculation du virus par la tique), à 5-14 jours (transmission par contact avec liquides biologiques ou viscères contaminés).

La fièvre hémorragique Crimée-Congo est la plus anciennement décrite et la plus répandue [14, 15]. Décrite initialement en Crimée (ex-URSS) en 1944, puis au Congo (ex-Zaïre) en 1956, elle est actuellement à l'état d'endozootie et d'endémie dans de nombreux pays d'Afrique, d'Asie Centrale, de la péninsule Arabique, du moyen Orient et de l'Europe du Sud, l'Europe centrale et l'Europe de l'Est (*figure 5*). Il s'agit d'une arbovirose transmise par des tiques, avec un large spectre, aussi bien en termes de réservoir (de nombreux vertébrés domestiques et sauvages, notamment les ruminants), que de vecteurs (principalement les tiques du genre *Hyalomma*, mais également *Dermacentor* et *Rhipicephalus*). En outre, la plupart des vertébrés infectés sont asymptomatiques, ce qui fait que les épizooties passent inaperçues. Il s'agit d'une maladie professionnelle chez les éleveurs, les vétérinaires, les travailleurs d'abattoir, mais de nombreuses épidémies nosocomiales ont été rapportées dans des structures

de soins où les mesures d'hygiène de base n'avaient pas été respectées [2, 16]. Comme Ebola et Marburg, la fièvre hémorragique Crimée-Congo ne se transmet pas par voie respiratoire, mais par contact direct avec des liquides biologiques contaminés par du sang en période virémique. La ribavirine ne semble pas efficace [17, 18], et le traitement est principalement symptomatique [19], avec une létalité moyenne estimée à 30-50 %, très variable selon les séries (2-80 %) [14].

7. La Fièvre de la vallée du Rift

Le virus de la vallée du Rift appartient à la famille des bunyaviridae (virus à ARN), genre phlébovirus. Les premiers cas de fièvre de la vallée du Rift ont été décrits chez des ruminants en 1934 au Kenya. La première épidémie documentée chez l'Homme remonte à 1951, en Afrique du Sud, et a été rattachée à la manipulation de carcasses d'ovins et de bovins [20], principal facteur de risque identifié lors des épidémies chez l'homme [21]. Par la suite, de nombreuses épidémies ont été rapportées, souvent

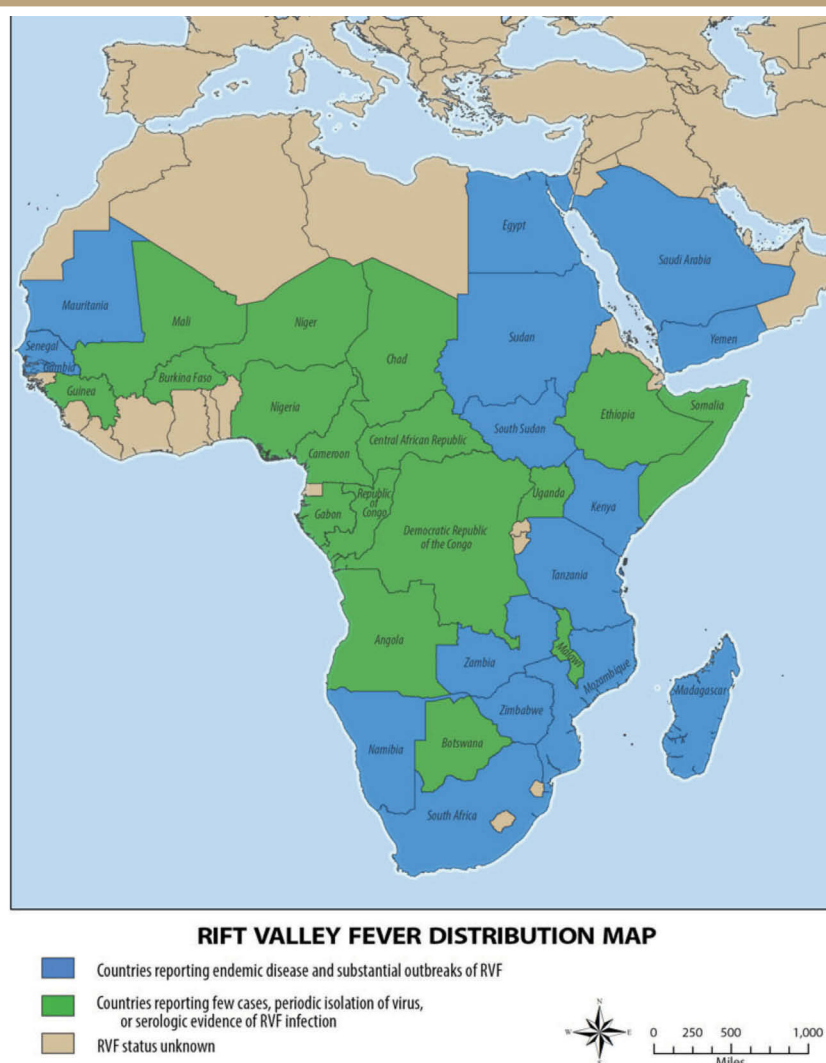
à la suite de périodes de pluie intenses, en rapport avec la prolifération des vecteurs, principalement les moustiques *Aedes* sp., qui agissent comme catalyseur de ces épidémies en accélérant la transmission entre les vertébrés, et des vertébrés à l'homme. Contrairement à la fièvre Crimée-Congo, la fièvre de la vallée du Rift est responsable de maladies sévères chez les ruminants et d'avortements. La surveillance des précipitations permet de prédire le risque d'épidémie de fièvre de la vallée du Rift dans les territoires d'endozootie, avec une bonne précision. Une des épidémies les plus spectaculaires a été rapportée en Egypte en 1977 avec une estimation de 20 à 40 000 cas symptomatiques, dont 600 décès. La première épidémie extra-Africaine, survenue sur la péninsule Arabique en 2000 (figure 6), a marqué un tournant et fait craindre une poursuite de l'extension de ce fléau [22]. Les formes hémorragiques ne toucheraient que 1 à 3 % des sujets infectés [23]. Les formes graves sont d'emblée fulminantes avec une virémie intense et une nécrose hépatique. Ce virus présente également un neurotropisme pouvant donner des formes purement neurologiques. Les lésions ophtalmologiques sont une des particularités de cette arbovirose, notamment les rétinites, avec risque de cécité définitive.

8. Diagnostic biologique des fièvres hémorragiques virales

À l'exception du virus de la fièvre de la Vallée du Rift, ces pathogènes responsables de fièvres hémorragiques virales entrent dans la catégorie des agents biologiques de classe IV (arrêté modifié du 18/07/1994 fixant la liste des agents biologiques pathogènes pour l'homme), correspondant au risque maximal pour l'homme en termes de dangerosité et de risque de propagation. Cela implique une manipulation au sein de laboratoires de confinement de niveau de sécurité biologique (NSB) 4 (figure 7) selon l'arrêté du 16 juillet 2007) et un transport de ces échantillons en triple emballage (figure 8) par un transporteur agréé selon la réglementation des Matières infectieuses de catégorie A (classe de danger 6-2, UN 2814 « Matières infectieuses pour l'homme »).

Le diagnostic de ces fièvres hémorragiques virales est réalisé par des centres nationaux ou internationaux de référence (CNR) bénéficiant d'une grande expertise dans le domaine. En France, le CNR des fièvres hémorragiques virales se situe à Lyon et dispose d'un laboratoire de type NSB4, le seul existant sur le territoire

Figure 6. Répartition géographique de la fièvre de la Vallée du Rift.



D'après Centers for Disease Control and prevention, <http://www.cdc.gov>

Figure 7 – Laboratoire de confinement de niveau de sécurité biologique (NSB) 4.



Figure 8 – Triple emballage UN2814.

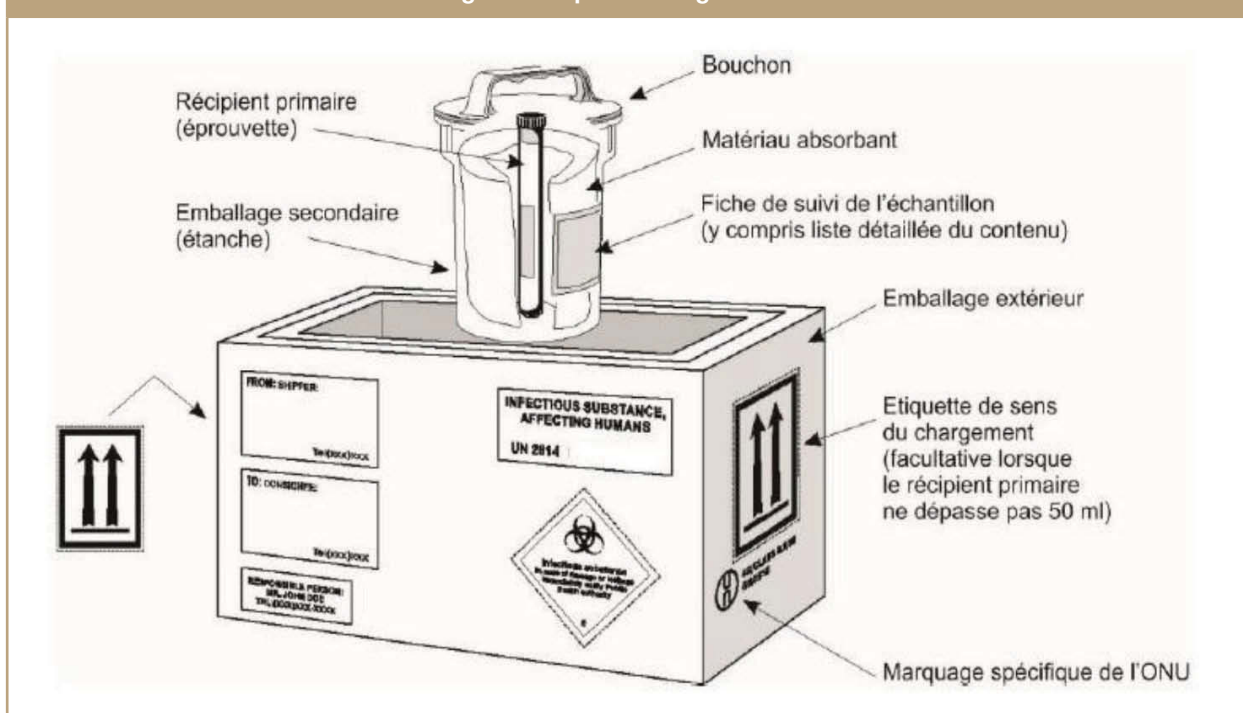


Figure 9 – Poste de Sécurité Microbiologique (PSM) de type III.



français (<http://www.pasteur.fr/fr/recherche/virologie/unites-et-groupes/biologie-infections-virales-emergentes>). Au sein de ces structures spécialisées le diagnostic virologique fait appel à plusieurs types de techniques :

• **Techniques dites directes :**

- Isolement du virus sur cultures cellulaires (Cellules Vero-Vero 6) avec mise en évidence d'un effet cytopathogène après culture.
- Microscopie électronique (exemple : aspect caractéristique des filovirus, des arénavirus, etc.)
- Mise en évidence d'antigènes viraux spécifiques à l'aide de tests Elisa (possible si grande quantité de virus dans le sang et les tissus)
- RT-PCR en temps réel ciblant des zones spécifiques du génome viral. Cependant, en cas de mutation importante sur le génome (variabilité des virus à ARN), la PCR peut être mise en défaut, d'où l'importance d'une surveillance des souches épidémiques par les Centres de Référence (veille épidémiologique).

• **Techniques dites indirectes**, mesurant la réponse en anticorps de type IgG et IgM : techniques Elisa (IgG direct, IgM par capture).

En pratique le diagnostic par RT-PCR en temps réel est, en 2016, le test diagnostique le plus sensible, tout en restant spécifique et en permettant un résultat dans les 4 heures suivant la prise en charge de l'échantillon. Ces techniques peuvent être appliquées sur sang prélevé sur tube EDTA, voire sur des urines ou des biopsies tissulaires. La détection d'antigènes viraux par technique Elisa ou par des tests rapides peut être utile sur le terrain, en zones peu équipées ou dépassées par l'afflux de patients. Les antigènes viraux et l'ARN viral apparaissent rapidement après le début des premiers signes cliniques - vers le 3^e jour - et persistent jusqu'à 7 à 16 jours [24]. Ceci explique qu'un résultat de PCR négatif ne peut exclure le diagnostic si le test a été effectué sur un prélèvement obtenu dans les 48 heures après le début des signes cliniques : il devra être contrôlé sur un 2^e prélèvement.

Concernant la réponse anticorps, les IgM apparaissent précocement - dès le 2^e jour suivant le début des signes - et persistent entre 30 et 168 jours. Les IgG se positivent entre le 6^e et le 18^e jour et persistent plusieurs années [24]. Il est important d'obtenir un 2^e prélèvement sérologique à distance afin de suivre la cinétique des anticorps (séroconversion en IgG, ascension des titres d'anticorps). L'apparition des IgG est souvent trop tardive pour avoir un intérêt diagnostique

immédiat, mais ce dosage s'avère intéressant pour des études de séroprévalence dans la population. Ainsi, lors de l'épidémie d'Ebola en Afrique de l'Ouest en 2014-2015, l'analyse des marqueurs sérologiques a permis de mettre en évidence un profil sérologique chez les patients décédés, différent de celui des survivants. Ces derniers développaient une immunité humorale très rapidement, ce qui serait un marqueur pronostique (25).

L'épidémie récente d'Ebola a soulevé de nombreuses interrogations et amené nos autorités sanitaires et sociétés savantes à émettre des recommandations en matière de prise en charge des échantillons biologiques. Les plus officielles émanent du Haut Conseil de la Santé Publique (HCSP) et sont libres d'accès sur le site (<http://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=414>). En France, en 2014 seul le laboratoire NSB4 de Lyon était habilité à réaliser le diagnostic virologique de la MVE. Afin de ne pas retarder la prise en charge du patient, les 12 Etablissements de Santé de Référence (ESR), répartis sur le territoire métropolitain et Outre-Mer, se devaient de pouvoir réaliser des examens de biologie de 1^{re} ligne, voire le diagnostic d'Ebola par RT-PCR, en laboratoire de type NSB 3, sous poste de sécurité microbiologique de niveau III ou PSM III (*figure 9*), selon l'arrêté du 6 août 2014 modifiant l'arrêté de 2007. Ce transfert de technologie s'est fait en lien étroit avec le CNR selon un cahier des charges bien établi.

9. Conclusion

Les fièvres hémorragiques virales forment un groupe de maladies virales hétérogènes, potentiellement graves, avec un potentiel épidémique illustré de manière dramatique par l'épidémie Ebola qui a frappé l'Afrique de l'Ouest en 2014-2015. Si le tableau clinique des formes hémorragiques est relativement stéréotypé, avec une évolution biphasique (syndrome pseudo-grippal initial pouvant évoluer, ou pas, vers un syndrome hémorragique), la biologie de ces virus et leur épidémiologie sont nettement plus variables, et nécessitent des mesures adaptées en termes de surveillance et de prévention. L'importance d'un diagnostic rapide, disponible sur le terrain, abordable et facile d'utilisation réside plus dans la nécessité d'interrompre les chaînes de transmission avant qu'il ne soit trop tard, que dans les possibilités thérapeutiques, qui restent très limitées en 2015.

Conflits d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts avec le contenu de cet article

Références

- [1] Jaureguierry S, Tattévin P, Tarantola A, Legay F, Tall A, Nabeth P, et al. Imported Crimean-Congo hemorrhagic Fever. *Journal of clinical microbiology*. 2005;43(9):4905-7.
- [2] Tarantola A, Nabeth P, Tattévin P, Michelet C, Zeller H. Lookback exercise with imported Crimean-Congo hemorrhagic fever, Senegal and France. *Emerg Infect Dis*. 2006;12(9):1424-6.
- [3] Agua-Agum J, Ariyaratna A, Aylward B, Blake IM, Brennan R, Cori A, et al. West African Ebola epidemic after one year--slowing

but not yet under control. *The New England journal of medicine*. 2015;372(6):584-7.

- [4] Meyers L, Frawley T, Goss S, Kang C. Ebola virus outbreak 2014: clinical review for emergency physicians. *Annals of emergency medicine*. 2015;65(1):101-8.

- [5] Feldmann H, Geisbert TW. Ebola haemorrhagic fever. *Lancet* (London, England). 2011;377(9768):849-62.

- [6] Leroy E, Baize S, Gonzalez JP. [Ebola and Marburg hemorrhagic fever viruses : update on filoviruses]. *Medecine tropicale : revue du Corps de sante colonial*. 2011;71(2):111-21.

- [7] Leroy EM, Gonzalez JP, Baize S. Ebola and Marburg haemorrhagic fever viruses: major scientific advances, but a relatively minor public health threat for Africa. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2011;17(7):964-76.
- [8] Baize S, Pannetier D, Oestereich L, Rieger T, Koivogui L, Magassouba N, et al. Emergence of Zaire Ebola virus disease in Guinea. *The New England journal of medicine*. 2014;371(15):1418-25.
- [9] Tattavin P, Durante-Mangoni E, Massaquoi M. Does this patient have Ebola virus disease? *Intensive care medicine*. 2014;40(11):1738-41.
- [10] Yazdanpanah Y, Arribas JR, Malvy D. Treatment of Ebola virus disease. *Intensive care medicine*. 2015;41(1):115-7.
- [11] Rougeron V, Feldmann H, Grard G, Becker S, Leroy EM. Ebola and Marburg haemorrhagic fever. *Journal of clinical virology: the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*. 2015;64:111-9.
- [12] Leparac-Goffart I, Emonet SF. [An update on Lassa virus]. *Medecine tropicale: revue du Corps de sante colonial*. 2011;71(6):541-5.
- [13] Sogoba N, Feldmann H, Safronetz D. Lassa fever in West Africa: evidence for an expanded region of endemicity. *Zoonoses and public health*. 2012;59 Suppl 2:43-7.
- [14] Oncu S. Crimean-Congo hemorrhagic fever: an overview. *Virologica Sin50* Ergonul O. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus: new outbreaks, new discoveries. *Current opinion in virology*. 2012;2(2):215-20.
- [16] Ftika L, Maltezou HC. Viral haemorrhagic fevers in healthcare settings. *The Journal of hospital infection*. 2013;83(3):185-92.
- [17] Asciloglu S, Leblebicioglu H, Vahaboglu H, Chan KA. Ribavirin for patients with Crimean-Congo haemorrhagic fever: a systematic review and meta-analysis. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2011;66(6):1215-22.
- [18] Ergonul O, Celikbas A, Dokuzoguz B, Eren S, Baykam N, Esener H. Characteristics of patients with Crimean-Congo hemorrhagic fever in a recent outbreak in Turkey and impact of oral ribavirin therapy. *Clin Infect Dis*. 2004;39(2):284-7.
- [19] Flusin O, Iseni F, Rodrigues R, Paranhos-Baccala G, Crance JM, Marianneau P, et al. [Crimean-Congo hemorrhagic fever: basics for general practitioners]. *Medecine tropicale: revue du Corps de sante colonial*. 2010;70(5-6):429-38.
- [20] Davies FG. The historical and recent impact of Rift Valley fever in Africa. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2010;83(2 Suppl):73-4.
- [21] Mohamed M, Mosha F, Mghamba J, Zaki SR, Shieh WJ, Paweska J, et al. Epidemiologic and clinical aspects of a Rift Valley fever outbreak in humans in Tanzania, 2007. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2010;83(2 Suppl):22-7.
- [22] Chevalier V, Pepin M, Plee L, Lancelot R. Rift Valley fever--a threat for Europe? *Euro surveillance: bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*. 2010;15(10):19506.
- [23] Pepin M. [Rift Valley fever]. *Med Mal Infect*. 2011;41(6):322-9.
- [24] Wang YP, Zhang XE, Wei HP. Laboratory detection and diagnosis of filoviruses. *Virologica Sinica*. 2011;26(2):73-80.
- [25] Goeijenbier M, van Kampen JJ, Reusken CB, Koopmans MP, van Gorp EC. Ebola virus disease: a review on epidemiology, symptoms, treatment and pathogenesis. *The Netherlands journal of medicine*. 2014;72(9):442-8.

Abcès parotidien et septicémie à *Chromobacterium violaceum* chez un enfant guyanais

Adeline Mallard^a, Augustin Messie^b, Jérôme Clouzeau^a, Faustin Kugbe^a, Crépin Kezza^b, Patrice Bourée^c, Solange Buende^a, Maimay Gaimard^a, Comlanvi Amouzou^a, Serge Zedong^a, Laura Zannoni^a

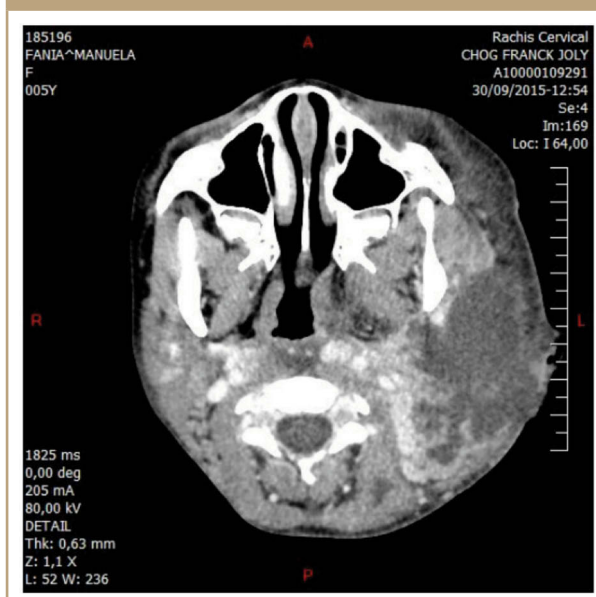
1. Introduction

Chromobacterium violaceum est un germe saprophyte, présent dans les sols et les eaux, en particulier dans les zones tropicales et subtropicales. Sa présence a été constatée sur le continent américain Colombie [1], Guyane [2], en Martinique [3] et surtout en Asie [4-7]. La contamination se fait le plus souvent en été, par contact de la peau lésée, souvent post-traumatique et elle peut se faire par voie digestive par ingestion d'eau ou d'aliments contaminés, *C. violaceum* étant responsable de l'altération des denrées alimentaires en formant des taches bleues sur les aliments) [8].

2. Cas clinique

Une enfant âgée de 4 ans, d'origine noir marron, résidant dans une commune de l'Ouest Guyanais, sans antécédent médico-chirurgical, a été hospitalisée pour une tuméfaction cervicale fébrile évoluant depuis 3 jours. À l'examen, elle était consciente et eupnéique, avait une fièvre à 38,5 °C, une fréquence cardiaque à 160/mn et une pression artérielle à 80/52 mmHg. Elle présentait une volumineuse masse cervico-faciale gauche inflammatoire, douloureuse, ainsi que quelques pustules au niveau du pavillon de l'oreille gauche et en rétro-auriculaire gauche. Elle n'avait pas de syndrome méningé. La CRP était élevée (439/mg/l). Un scanner crânien et cervical a retrouvé un abcès parotidien gauche mesurant 7 x 7,5 cm associé à une infiltration du muscle masséter gauche, de l'espace carotidien et du muscle ptérygoïdien interne gauche (**figure 1**). En outre, il y avait un thrombus au sein de la veine jugulaire interne gauche. Une antibiothérapie intraveineuse à large

Figure 1 – *Chromobacterium*, scanner cérébral.



spectre a été débutée associant ceftriaxone, vancomycine, gentamycine et métronidazole.

L'abcès a été drainé dès le jour de l'hospitalisation. Au décours de l'intervention chirurgicale une détresse respiratoire ainsi qu'un œdème facial se sont rapidement installés, nécessitant une intubation orotrachéale, une ventilation assistée et un transfert en réanimation puis en métropole. Une héparinothérapie intraveineuse a été mise en place. L'hémoculture ainsi que la culture du pus sont revenues positives à *Chromobacterium violaceum*, sensible à la pipéracilline, au tazobactam, à la rifampicine, à la ceftazidime, à la ciprofloxacine et au cotrimoxazole, et intermédiaire à l'imipénème. L'interrogatoire, repris devant la gravité de l'évolution, apprend qu'une scarification en zone rétro-auriculaire gauche avec application de plantes non identifiées avait été faite par la famille quelques jours auparavant en raison de la présence d'une lésion cutanée.

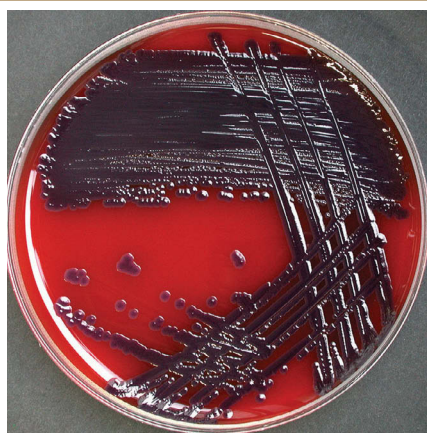
3. Discussion

Chromobacterium violaceum, seule espèce du genre *Chromobacterium*, est un bacille gram négatif aéro-anaérobie, mobile, non sporulé. Il pousse sur milieu enrichi en tryptophane en donnant des colonies lisses de couleur

a Service de Pédiatrie,
Centre Hospitalier Franck Joly, 97 St Laurent du Maroni, Guyane
b Service des Urgences,
Centre Hospitalier Franck Joly, 97 St Laurent du Maroni, Guyane
c Centre de santé, Apatou, Guyane et Service de Parasitologie,
hôpital Cochin, 75014 Paris

Correspondance
mallard.adeline7@gmail.com

article reçu le 28 juillet 2015, accepté le 12 janvier 2016
© 2016 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

Figure 2 – *Chromobacterium-violaceum*.

violet foncé (figure 2). La violacéine, pigment violet foncé, possède des propriétés antibiotiques. Les souches non pigmentées sont beaucoup plus rares. Les cultures de ce bacille dégagent une odeur d'amande, due à la production de cyanure d'hydrogène. La virulence de cette bactérie est due à une endotoxine et à une mauvaise réponse de l'hôte. Les infections à *Chromobacterium violaceum* sont rares (environ 150 cas décrits depuis la première description en Malaisie en 1927) [6] mais rapidement évolutives [9] et sévères chez des patients immunocompétents [1]. Les patients présentent des tableaux très variés : fièvre dans tous les cas et un sepsis très fréquent [10] (tableau I), adénopathies [11], lésions cutanées pustuleuses [12], cellulite de la face [13], pneumopathie avec choc septique et défaillance multiviscérale [1], fasciite nécrosante [14, 15], abcès multiples des poumons, du foie et de la rate [16, 17], ou du péritoine [2]. L'âge des patients s'est échelonné de 4 mois [12] à 80 ans [6].

Tableau I. Principaux symptômes constatés chez les sujets infectés par *Chromobacterium violaceum* (d'après Yang)

Symptômes	Patients (n= 106)
Fièvre	100 %
Sepsis	82 %
Pustules cutanées	68 %
Abcès localisés	49 %
Douleurs abdominales	31 %

L'interrogatoire a souvent retrouvé la notion de plaie récente [6, 14, 17-20], voire de polytraumatisme [21]. *Chromobacterium violaceum* a été incriminé, chez les primates non humains (macaques et babouins), dans des atteintes pulmonaires et hépatiques associés à des thromboses [22]. L'issue a été souvent fatale aussi bien chez l'homme que chez les singes. Quelques facteurs de risque ont été identifiés, comme le jeune âge, la présence d'abcès localisés, une évolution courte ou encore un traitement inadapté [10]. Des traitements efficaces ont été observés par combinaison d'antibiotiques à large spectre (ofloxacine et pipéracilline, tazobactam ou méropénem associé à la ciprofloxacine et à la vancomycine) et d'un drainage chirurgical des lésions. Après la phase aiguë parentérale, le relais thérapeutique par voie orale doit être prolongé pendant plusieurs semaines, car plus de 6 % des patients font des rechutes [10].

Dans le centre hospitalier de St-Laurent du Maroni, les interrogatoires des familles d'origine noir marron de l'Ouest Guyanais retrouvent souvent la notion d'application sur la peau, lésée ou non, de plantes non identifiées (« washî ») dans un contexte de médecine traditionnelle. Une prévention de santé publique devra être faite, afin de conseiller à ces familles une désinfection soigneuse avant et après ces soins traditionnels en raison de la présence, dans les eaux et les sols, de bactéries telles que *Chromobacterium violaceum* ou de champignons comme *Cladophialophora bantiana*, également responsable d'infections sévères et difficiles à traiter.

Compte tenu de la proximité de ces familles avec la flore et la faune, l'existence d'un réservoir animal peut être envisagée, mais elle est peu probable étant donné la pathogénicité de la bactérie chez les primates non humains [22]. En revanche, il faut recommander de ne pas consommer un primate non humain (Singe hurleur *Alouatta seneculus*, Tamarin à mains dorées *Saguinus midas*, etc.) retrouvé mort. Par ailleurs les conseils hygiéno-diététiques sur le maintien de la chaîne du froid pour la conservation des aliments doivent être renforcés. Enfin, en zone tropicale, la question se pose d'élargir d'emblée un traitement antibiotique avec une fluoroquinolone devant un tableau clinique d'abcès sévère et rapidement évolutif.

Déclaration d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts en relation avec cet article.

Références

- [1] Martinez P, Mattar S. Fatal septicemia caused by *Chromobacterium violaceum* in a child from Colombia. Rev Inst Med Trop S Paulo. 2007; 49: 391-3
- [2] Watine J, Courtade A, Pham E, Lievrouw C, Dubourdiou B, Guérin B et coll. Péritonite à *Chromobacterium violaceum*: observation et revue de la littérature. Ann Biol Clin 2006 ;64(4) :327-30.
- [3] Grégory A, Ribollet D, Pailla K, Bourgade M, Alma S. Septicémie à *Chromobacterium violaceum* : premier cas rapporté aux Antilles. Med Mal Infect 2007 ; 37 : 613-5
- [4] Baker S, Campbell JI, Tabler R, Nguyen HV, To DS, Nguyen DV et al. Fatal wound infection caused by *Chromobacterium violaceum* in Ho Chi Minh City, Vietnam. J Clin Microbiol 2008; 46: 3853-5
- [5] Jitmuang A. Human *Chromobacterium violaceum* infection in southeast Asia: case reports and literature review. Southeast Asian J Trop Med Publ Hlth 2008; 39:452-60
- [6] Chang CY, Lee YT, Liu KS, Wang YL, Tsao SM. *Chromobacterium violaceum* in Taiwan: a case report and literature review. J Microbiol Immunol Infect 2007; 40: 272-5
- [7] Slesak G, Douangdala P, Inthad S, Silisouk J, Vongsouvath M, Sengduangphachanh A et al. Fatal *Chromobacterium violaceum* septicemia in northern Laos, a modified oxidase test and post-mortem forensic family G6PD analysis. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2009; 8 :24
- [8] Delmas C. Fiche technique : *Chromobacterium violaceum*. Fiche technique_Bactériologie 62. EN.FTBAC. 2006 ;141011.01.

- [9] Diaz Perez JA, Garcia J, Rodriguez Villamizar LA. Sepsis by *Chromobacterium violaceum* : first case report from Colombia. *Braz J Infect Dis* 2007; 11: 441-2
- [10] Yang CH, Li YH. *Chromobacterium violaceum* infection: a clinical review of an important but neglected infection. *J Clin Med Assoc* 2011; 74: 435-41
- [11] Arosio M, Raglio A, Ruggeri M, Serna Ortega P, Morali L, de Angelis C et al. *Chromobacterium violaceum* lymphadenitis successfully treated in a Northern Italian hospital *New Microbiol* 2011; 34: 429-32
- [12] Moore CC, Lane JE, Stephens JL. Successful treatment of an infant with *Chromobacterium violaceum* sepsis. *Clin Inf Dis* 2001; 32: e107-10
- [13] Shao PL, Hsueh PR, Chang YC, Lu CY, Lee PY, Lee CY et al. *Chromobacterium violaceum* infection in children : a case of fatal septicaemia with nasopharyngeal abscess and literature review. *Pediatr Infect Dis J* 2002; 21:707-9
- [14] Kumar MR. *Chromobacterium violaceum*: a rare bacterium isolated from a wound over the scalp. *Int J Appl Basic Med Res*. 2012;2:70-72.
- [15] Seigel JK, Stadler ME, Lombrano JL, Almony JS, Couch ME, Belhorn TH. *Chromobacterium violaceum*: a case report and review of the literature. *E N T J*. 2012; 91(11):479-83.
- [16] Sirinavin S, Techasaensiri C, Benjaponpitak S, Pornkul R, Vorachit M. Invasive *Chromobacterium violaceum* infection in children: case report and review. *Pediatr Infect Dis J*. 2005;24(6):559-61.
- [17] Perera S, Punchikewa PM, Karunanayake, de Silva N. Fatal septicaemia caused by *Chromobacterium violaceum*. *Ceylon Med J*. 2003;48(1):26-7.
- [18] Campbell JI, Lan NP, Qui PT, Dung Le T, Fanon JJ, Baker S. A succesful antimicrobial regime for *Chromobacterium violaceum* induced bacteremia. *BMC Infect Dis*. 2013;13:4.
- [19] Ma SK, Chuang SK, Cheung TL, Kam KM, Tsang HE. A fatal case of *Chromobacterium violaceum* septicaemia in Hong-Kong. *Southeast Asian J Trop Med Publ Hlth* 2006; 37: 1179-82
- [20] Karthik R, Pancharatnam P, Balaji V. Fatal *Chromobacterium violaceum* septicemia in a south Indian adult. *J Infect Dev Ctries* 2012; 6: 751-5
- [21] Teoh AYB, Hui M, Ngo KY, Wong J, Lee KF, Lai PBS. Fatal septicaemia from *Chromobacterium violaceum* : case reports and review of the literature. *Hong Kong Med J* 2006; 12: 228-31
- [22] Liu DX, Didier PJ, Plauche GB. *Chromobacterium violaceum* infections in 13 nonhuman primates. *J Med Primatol*. 2012 ;41(2) :107-14.

DROIT DES SOCIÉTÉS

Décret SEL/SCP/SPFPL

Le décret relatif aux sociétés exploitant un laboratoire de biologie médicale privé et aux sociétés de participations financières de profession libérale de biologistes médicaux est paru*

Le décret n° 2016-44 du 26 janvier 2016, publié au Journal officiel du 28 janvier 2016, précise le régime juridique applicable aux sociétés autorisées à exploiter un laboratoire de biologie médicale privé conformément à l'article L. 6223-1 du Code de la santé publique.

Le décret précise également le régime juridique des sociétés de participations financières de profession libérale (SPFPL) de biologistes médicaux, qui permet aux personnes physiques ou morales exerçant la biologie médicale de constituer des SPFPL dont l'objet est la détention de parts ou d'actions de société d'exercice libéral (SEL).

Précisément, le décret fixe les règles de détermination du capital social de ces sociétés, en prévoyant que le capital des SPFPL de biologistes médicaux n'est ouvert qu'à des biologistes médicaux en exercice, d'anciens biologistes médicaux pendant dix ans ou les ayants droit de ces personnes pendant cinq ans à compter du décès.

Il détermine également les modalités de contrôle et d'inscription à l'ordre des pharmaciens et/ou l'ordre des médecins.

Ce texte entre en vigueur le lendemain de sa publication, soit le 29 janvier 2016.

Les dispositions du Code de la santé publique modifiées par le présent décret peuvent être consultées, dans leur rédaction résultant de cette modification, sur le site Légifrance: www.legifrance.gouv.fr

Voici quelques paragraphes à remarquer :

1- Société d'exercice libéral de biologistes médicaux

La société d'exercice libéral de biologistes médicaux exploite un laboratoire de biologie médicale.

Un biologiste médical associé ne peut exercer sa profession à titre libéral qu'au sein d'une seule société d'exercice libéral et ne peut cumuler cette forme d'exercice avec l'exercice à titre individuel ou au sein d'une société civile professionnelle.

Relations avec l'assurance maladie

Art. R. 6223-8. - La société qui exploite un laboratoire de biologie médicale et les associés y exerçant leur profession sont soumis aux lois et des textes pris pour leur application régissant les rapports de la profession avec l'assurance maladie.

En particulier, les dispositions de la convention nationale mentionnée au chapitre II du titre VI du livre I^{er} du Code de la sécurité sociale régissant les relations avec les biologistes médicaux s'appliquent à la société, dans la mesure où elles sont applicables à une personne morale, ainsi qu'à chacun des biologistes médicaux exerçant au sein de la société, pour celle des dispositions qui ont trait à leur activité.

Les associés exerçant leur profession au sein d'une société sont dans la même situation à l'égard de la convention nationale applicable à leur profession.

l'exercice de ces professionnels dans le cadre de la société, celle-ci est placée de droit hors convention pour la même durée à l'expiration d'un délai de deux mois à compter de la notification prévue à l'article R. 6223-10. Le déconventionnement de la société est soumis aux mêmes voies de recours que le déconventionnement dont font l'objet les professionnels.

Les dispositions de l'alinéa précédent ne s'appliquent qu'en cas de déconventionnement d'une durée supérieure à trois mois ou en cas de récurrence des manquements ayant entraîné un premier déconventionnement, quelle qu'en soit la durée.

Art. R. 6223-10. - Toute décision prise par une caisse d'assurance maladie de placer hors convention la société ou un associé exerçant la profession en son sein, ou constatant que la société s'est placée hors convention, est notifiée à la société ainsi qu'à chacun des associés.

Cession de parts sociales

Art. R. 6223-65. - Le projet de cession de parts sociales ou d'actions d'une société d'exercice libéral de biologistes médicaux mentionnée au II de l'article L. 6223-8 est notifié au représentant légal de la société et à chacun des biologistes médicaux, personnes physiques exerçant dans la société, par tout moyen permettant de rapporter la preuve de sa date de réception. La notification vaut offre de cession au profit de chacun des biologistes médicaux et mentionne, à peine de nullité, le prix et les conditions.

Chaque biologiste médical exerçant au sein de la société dispose d'un délai de deux mois, à compter de la date mentionnée au premier alinéa, pour notifier au cédant, par tout moyen permettant de

RÉPONSES AUX QUESTIONS DU QCM (pages 68 - 70)

- | | | |
|------------------|-------------|-------------------|
| 1. A, B, C | 8. B | 15. B, C, D |
| 2. A, B, C, D, E | 9. A, B, D | 16. A, D |
| 3. A, B, C, D, E | 10. A, C, E | 17. D |
| 4. B, D, E | 11. A, E | 18. A, B |
| 5. C, E | 12. C, D | 19. A, B, C, D, E |
| 6. C, D | 13. C | 20. A, B, D |
| 7. B, C | 14. C, D | |

Art. R. 6223-9. - En cas de déconventionnement d'un ou plusieurs des associés exerçant leur profession au sein de la société, sans que ceux-ci ne se retirent de la société, et faute pour les autres associés, dans les conditions prévues par les statuts, de suspendre pour la durée de la mise hors convention



© Hoda Bogdan

rapporter la preuve de sa date de réception, son intention d'acquérir tout ou partie des parts sociales ou des actions aux prix et conditions fixés, ou à défaut dans les conditions prévues à l'article 1843-4 du Code civil.

À l'expiration de ce délai, lorsque plusieurs biologistes médicaux exerçant au sein de la société ont manifesté leur intention d'acquérir tout ou partie des parts sociales ou des actions dont la cession est projetée, le cédant en informe l'ensemble des biologistes médicaux. Lorsque le nombre total de parts sociales ou d'actions que les biologistes médicaux exerçant dans la société ont déclaré vouloir acquérir est supérieur au nombre de parts sociales ou d'actions dont la cession est projetée, et faute d'accord entre eux dans un délai d'un mois à compter de l'information faite par le cédant, les parts sociales ou actions concernées sont réparties entre eux par le cédant.

En l'absence de réponse de leur part, à l'expiration du délai mentionné au deuxième alinéa du 1) du présent article, les biologistes médicaux exerçant au sein de la société sont réputés ne pas se porter acquéreurs des parts sociales ou des actions et la cession peut se faire au bénéfice des personnes mentionnées au second alinéa du II de l'article L. 6223-8.

Le cédant ne peut décider de vendre, à des conditions ou à un prix plus avantageux, aux personnes mentionnées au second alinéa du II de l'article L. 6223-8, sans avoir émis une nouvelle offre au bénéfice des biologistes médicaux, personnes physiques exerçant au sein de la société, selon la procédure décrite au 1 du présent article.

La cession de parts sociales ou d'actions prévue au présent article est soumise aux formalités prévues à l'article L. 221-14 du Code du commerce.

Dans tous les cas, une copie des notifications mentionnées au 1) du présent article est transmise au Conseil de l'ordre compétent et au directeur général de l'agence régionale de santé dans le ressort desquels est situé le siège social de la société.

Toute cession de parts sociales ou d'actions réalisée en violation du présent article est inopposable à la société et aux associés ou actionnaires.

2 - Sociétés civiles professionnelles

Art. R. 6223-11.- Les dispositions de la présente section régissent les sociétés civiles professionnelles constituées entre biologistes médicaux personnes physiques en application de la loi n° 66-879 du 29 novembre 1966 relative aux sociétés civiles professionnelles dont l'objet est l'exercice en commun de la profession de biologiste médical. Ces sociétés portent l'appellation de sociétés civiles professionnelles de biologistes médicaux.

Une société civile professionnelle de biologistes médicaux exploite un laboratoire de biologie médicale.

Un biologiste médical ne peut être associé que d'une seule société civile professionnelle. Le biologiste médical associé d'une société civile professionnelle ne peut exercer sa profession à titre libéral qu'au sein de celle-ci.

3 - Société de participations financières de profession libérale de biologistes médicaux

Art. R. 6223-79.- Des personnes physiques ou morales exerçant la profession de biologiste médical peuvent, dans les conditions prévues à l'article 31-1 de la loi n° 90-1258 du 31 décembre 1990, constituer une société de participations financières de profession libérale de biologistes médicaux.

Peuvent également être associés :

1° Pendant une durée de dix ans à compter de la date de cessation de toute activité professionnelle, des personnes physiques qui ont exercé la profession de biologiste médical au sein de l'une des sociétés d'exercice libéral dont des parts ou actions

sont détenues par la société de participations financières de profession libérale de biologistes médicaux ;

2° Les ayants droit des personnes physiques mentionnées aux alinéas qui précèdent, pendant un délai de cinq ans suivant leur décès.

La détention d'une part ou action du capital social d'une société de participations financières de profession libérale de biologistes médicaux est interdite à toute personne physique ou morale exerçant ou ayant exercé une autre profession de santé.

Contrôle

Art. R. 6223-87.- *Chaque société de participations financières de profession libérale de biologistes médicaux fait l'objet, au moins une fois tous les quatre ans, d'un contrôle portant sur le respect des dispositions législatives et réglementaires qui régissent la composition de son capital et l'étendue de ses activités.*

Chaque société de participations financières de profession libérale de biologistes médicaux peut, en outre, être soumise à des contrôles occasionnels prescrits par le conseil national du ou des ordres dont elle relève.

Ces contrôles sont effectués par le conseil du ou des ordres compétents dont relève la société, dans les conditions définies par le règlement intérieur de cet ou de ces ordres.

Mise en conformité

Les sociétés de participations financières de profession libérale de biologistes médicaux constituées avant la date de publication du présent décret doivent, dans un délai de deux ans à compter de cette date, se mettre en conformité avec les dispositions de celui-ci.

À l'expiration de ce délai, si un ou plusieurs associés ne satisfaisant pas aux dispositions du présent décret n'ont pas cédé les parts ou actions qu'ils détiennent, la société peut, nonobstant leur opposition, décider de réduire son capital du montant de la valeur nominale des parts ou actions de ceux-ci et de les racheter à un prix fixé, sauf accord entre les parties, dans les conditions prévues à l'article 1843-4 du code civil. À défaut, tout intéressé peut demander en justice la dissolution de la société. ■■

* Décret n° 2016-44 du 26 janvier 2016 paru au JORF n° 0023 du 28 janvier 2016

INFORMATIQUE

« Une charte pour sécuriser les connexions informatiques des automates de laboratoire. »

Les fournisseurs de systèmes de diagnostic *in vitro* adhérents du SIDIV (Syndicat de l'Industrie du Diagnostic In Vitro) et les fournisseurs de Systèmes d'Informations de laboratoires adhérents de la SFIL (Société Française d'Informatique de Laboratoire) annoncent la publication d'une charte en 10 engagements pour la connexion informatique de leurs solutions.

Cette charte s'inscrit dans la démarche d'amélioration continue de la qualité. Du partage initial des informations pour la formalisation des besoins, à la coopération pour la résolution des incidents, elle intègre tous les aspects techniques et organisationnels du cycle de vie d'une connexion, et impose la chronologie des actions à réaliser afin de s'assurer que la mise en place d'une connexion d'automate de laboratoire réponde aux exigences d'efficacité et de sécurité conformes aux réglementations et normes applicables. Elle entre en vigueur début 2016 et fera l'objet d'un colloque à destination de tous les représentants de la profession le 15 mars 2016 à Paris.

Les objectifs, le domaine d'application, les définitions, les responsabilités, les connexions informatiques hors cadre de la Charte, de même que la liste à jour des fournisseurs, membres du SIDIV et de la SFIL, signataires de la Charte des Fournisseurs sont disponibles sur les sites internet*, avec les annexes (description du processus associé aux étapes de validation, vérification et qualification des connexions informatiques dans un LBM, fiche de validation d'une connexion, fiche de vérification de fonctionnement d'une connexion et modèles de contrats). ■■

*Charte-sfil-sidiv@sfil.asso.fr
www.sfil.asso.fr/
www.sidiv.fr

La SFIL

Créée en 1985, elle regroupe des biologistes, privés et hospitaliers, et des industriels. Ses principales missions sont consacrées aux logiciels de laboratoires de biologie médicale, au bénéfice de leur évolution en adéquation avec les textes réglementaires et les avancées technologiques.

Elle est surtout connue pour son congrès annuel, mais favorise aussi les échanges d'idées, organise des groupes de travail et crée des supports techniques et méthodologiques à destination de ses adhérents. Pour en savoir plus : www.sfil.asso.fr

Le SIDIV

Créé en 1977, il fédère la majorité des acteurs du diagnostic *in vitro*. Avec près de 80 sociétés adhérentes, il représente plus de 95 % du chiffre d'affaires de la profession soit 1,79 milliard d'euros annuels. Pour en savoir plus : www.sidiv.fr

La charte

Les fournisseurs signataires de la charte s'engagent à :

1. Faire la demande de devis dans un délai compatible avec la date de réponse attendue.
2. Communiquer, simultanément à la demande d'un devis, l'ensemble des pièces nécessaires à l'établissement de celui-ci : cahier des charges, spécifications techniques, consultation, protocoles de communication, documents d'un appel d'offres, qu'il soit public ou privé.
3. Émettre un devis :
 - dans un délai raisonnable
 - en toute connaissance et acceptation des documents du marché ;
 - précisant de manière formelle toute réserve quant aux besoins portés à la connaissance de l'émetteur du devis ;
 - dont la validité ne saurait être inférieure à la date d'attribution initiale, ou éventuellement prolongée, du marché public ou privé concerné ;
4. Coopérer et mettre en œuvre les moyens et ressources nécessaires à la validation et la vérification de la connexion, et à utiliser les fiches de validation et de vérification de connexion (documents annexés à la Charte) dans le cadre du processus élaboré par la SFIL et le SIDIV.
5. S'assurer et se porter garant de la conformité du matériel/de la connexion aux spécifications du donneur d'ordre, dans la mesure où les documents relatifs au matériel et aux demandes du donneur d'ordre, public ou privé, ont été communiqués.
6. Contractualiser si possible leurs relations, notamment lors de prestations exécutées en conformité avec le droit des marchés publics, par exemple :
 - en utilisant le modèle proposé de contrat de sous-traitance.
 - en utilisant le modèle proposé de convention de Groupement Momentané d'Entreprises lors de la mise en place d'une cotraitance conjointe non solidaire.
7. Déclarer la sous-traitance ou la cotraitance lors de l'exécution de prestations régies par le code des marchés publics.
8. S'informer mutuellement de tout changement de version ou de protocole pouvant impacter la connexion.
9. Coopérer à la résolution des incidents survenant au sein du laboratoire dans le cadre de leurs contrats de maintenance respectifs.
10. Mettre en place un comité de pilotage et de suivi afin de s'assurer du bon respect de la Charte par ses signataires.

TEXTES JURIDIQUES

LOIS (JO du 27/1/2016)

LOI n° 2016-41 du 26 janvier 2016 de modernisation de notre système de santé

Texte accessible sur: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000031912641&dateTexte=&categorieLien=id>

Ministère des Affaires sociales et de la Santé (JO du 6/1/2016)

Décret n° 2016-5 du 5 janvier 2016 portant création du Centre national des soins palliatifs et de la fin de vie

Texte accessible sur: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000031769527&dateTexte=&categorieLien=id>

Arrêté du 31 décembre 2015 modifiant l'arrêté du 27 février 2004 relatif à l'organisation, à l'inscription, au programme, au déroulement, à la nature, à la pondération et à la procédure d'affectation du concours spécial d'internat de médecine à titre européen

Texte accessible sur: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000031769563&dateTexte=&categorieLien=id>

Arrêté du 24 décembre 2015 relatif au contenu de la déclaration décrivant l'organisation et le fonctionnement des services autonomes de santé au travail des établissements publics de santé, sociaux et médico-sociaux mentionnés à l'article 2 de la loi n° 86-33 du 9 janvier 1986 portant dispositions statutaires relatives à la fonction publique hospitalière

Texte accessible sur: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000031769537&dateTexte=&categorieLien=id>

Ministère de l'Agriculture (JO du 6/1/2016)

Arrêté du 29 décembre 2015 modifiant l'arrêté du 29 décembre 2009 désignant les laboratoires nationaux de référence dans le domaine de la santé publique vétérinaire et phytosanitaire

Texte accessible sur: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000031769653&dateTexte=&categorieLien=id>

Arrêté du 5 janvier 2016 modifiant l'arrêté du 17 décembre 2015 déterminant des dispositions de lutte complémentaires contre l'influenza aviaire hautement pathogène suite à la détection de la maladie sur le territoire français

Texte accessible sur: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000031769667&dateTexte=&categorieLien=id>

Ministère des Affaires sociales et de la Santé (JO du 7/1/2016)

Arrêté du 28 décembre 2015 transposant la directive 2014/110/UE de la Commission du 17 décembre 2014 modifiant la directive 2004/33/CE en ce qui concerne les critères d'exclusion temporaire pour les candidats à des dons homologues et modifiant l'arrêté du 12 janvier 2009 fixant les critères de sélection des donneurs de sang [Dons de sang et West Nile virus]

Texte accessible sur: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000031783102&dateTexte=&categorieLien=id>

Ministère des Affaires sociales et de la Santé (JO du 8/1/2016)

Arrêté du 24 décembre 2015 pris en application de l'article L. 2141-1 du code de la santé publique et modifiant l'arrêté du 3 août 2010 modifiant l'arrêté du 11 avril 2008 relatif aux règles de bonnes pratiques cliniques et biologiques d'assistance médicale à la procréation

Texte accessible sur: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000031794434&dateTexte=&categorieLien=id>

Ministère des Affaires sociales et de la Santé (JO du 13/1/2016)

Décret n° 2016-12 du 11 janvier 2016 relatif aux conditions techniques d'organisation et de fonctionnement des structures dénommées « lits halte soins santé » (LHSS) et « lits d'accueil médicalisés » (LAM)

Texte accessible sur: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000031824723&dateTexte=&categorieLien=id>

Arrêté du 9 décembre 2015 modifiant l'arrêté du 14 mars 2007 relatif aux critères de qualité des eaux conditionnées, aux traitements et mentions d'étiquetage particuliers des eaux minérales naturelles et de source conditionnées ainsi que de l'eau minérale naturelle distribuée en buvette publique

Texte accessible sur: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000031824750&dateTexte=&categorieLien=id>

Arrêté du 4 janvier 2016 relatif aux modalités d'application des dispositions de l'article 29-1 du décret n° 86-660 du 19 mars 1986 modifié relatif à l'exercice du droit syndical dans les établissements mentionnés à l'article 2 de la loi n° 86-33 du 9 janvier 1986 portant dispositions statutaires relatives à la fonction publique hospitalière

Texte accessible sur: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000031824763&dateTexte=&categorieLien=id>

Arrêté du 5 janvier 2016 modifiant l'arrêté du 7 octobre 2015 portant nomination des membres appelés à siéger dans les comités d'experts chargés d'autoriser les prélèvements d'organes et de cellules hématopoïétiques issues de la moelle osseuse sur une personne vivante

Texte accessible sur: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000031825080&dateTexte=&categorieLien=id>

Ministère de l'Agriculture (JO du 14/1/2016)

Arrêté du 6 janvier 2016 relatif aux justificatifs requis pour l'achat de produits phytopharmaceutiques de la gamme d'usages « professionnel »

Texte accessible sur: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000031832723&dateTexte=&categorieLien=id>

Ministère des Affaires sociales et de la Santé (JO du 15/1/2016)

Arrêté du 12 janvier 2016 portant modification des conditions d'inscription du système d'autosurveillance de la glycémie Accu-Chek Mobile de la société Roche Diabetes Care France au titre 1^{er} de la liste des produits et prestations remboursables prévue à l'article L. 165-1 du code de la sécurité sociale

Texte accessible sur: <http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000031837535&dateTexte=&categorieLien=id>

ÉCHOS PARLEMENTAIRES

Pénurie de généralistes : mobilisation parlementaire

Depuis plus de 2 ans, les parlementaires interpellent le ministère de la Santé sur le problème de la pénurie de médecins généralistes dans les campagnes et même des centres urbains. Voici quelques remarques récemment exprimées au Sénat.

- Pour Serge Dassault, l'un des problèmes est que les médecins prennent leur retraite et ne trouvent pas de remplaçants, les nouveaux médecins n'étant pas en mesure d'assumer les dépenses liées au fonctionnement des cabinets médicaux. Les médecins encore en exercice n'acceptent plus de nouveaux patients, ce d'où perte financière pour les patients : en l'absence de médecin traitant, la Sécurité Sociale ne rembourse plus que partiellement leurs dépenses. Outre les initiatives prises par les communes (recherche de locaux à loyer inférieur, mise à disposition de local équipé à titre gracieux, financement d'années d'études...), quelles mesures gouvernementales sont prévues ?

- Gérard Cornu souhaite obtenir des précisions sur le profil des médecins ayant choisi le contrat de praticien territorial de médecine générale proposé par le ministère et les départements concernés. Si cette mesure constitue un instrument de lutte contre la désertification médicale, il lui apparaît en effet que dans les zones où les médecins généralistes manquent, il y a un fort besoin, de nature à générer naturellement des revenus même supérieurs à ceux proposés au travers de ce contrat.

- François Comminhes évoque l'avenir de la permanence des soins face à l'aggravation de la désertification en médecine générale. Selon le rapport annuel du Conseil national de l'ordre des médecins, le nombre de généralistes a chuté de 10 % entre 2007 et 2014. C'est l'attractivité de la profession qui est touchée, avec un plafond de 60 % de médecins volontaires dans seulement deux tiers des départements, contre 73 % en 2012. Alors que la loi HPST n° 2009-879 du 21/7/2009 reconnaît comme mission de service public la permanence des soins celle-ci se trouve *en état critique*. La (mauvaise) réponse des ARS pose des problèmes, tant en matière de création de maisons médicales (nulle en 2014) que sur la sauvegarde du lien de proximité à l'échelon régional. La création, prévue dans le projet de modernisation du système de santé, d'un numéro national non gratuit concernant la permanence des soins est insuffisante.

- Charles Guené attire l'attention sur la question prégnante du manque croissant de généralistes dans les villes sises en territoire rural où elles assument un rôle essentiel d'attractivité et de services, particulièrement en matière d'offre de soins. Ces villes sont confrontées au double problème des départs en retraite des praticiens et à la difficulté d'attirer les jeunes confrères, le *Pacte territoire santé* ne leur apporte pas de solution adaptée. En outre elles ne bénéficient pas d'aides similaires à celles prévues pour les zones rurales *stricto sensu* alors qu'elles subissent le déficit d'attractivité et la même désertification médicale.

- Roger Karoutchi demande des précisions sur la lutte contre les déficits de médecins, généralistes ou spécialistes, dans différents territoires, car le rapport annuel du Conseil de l'ordre des médecins estime que le nombre de praticiens va diminuer de 0,3 % d'ici à 2016. Conséquence directe d'une telle baisse, la détérioration de la situation dans les déserts médicaux. Depuis 2007, 63 départements ont été confrontés à une baisse des médecins et la médecine générale demeure le corps de métier le plus touché. Il faut des mesures contre l'inexorable hausse des déserts médicaux.

- Sophie Primas révèle que même si le nombre de généralistes en Île-de-France se situe au-dessus de la moyenne nationale, des disparités entre les territoires franciliens existent. Exemple en Yvelines : la majorité des cantons de l'arrondissement de Mantes-la-Jolie présentent un ratio proche de 5 médecins généralistes pour 10 000 habitants. Situation d'autant plus préoccupante que le département fait face à une variation du nombre de ces praticiens de -11,9 % en 2007-2013. Les habitants subissent l'éloignement et la saturation des cabinets médicaux, dont les sujets âgés, qui ont des difficultés de mobilité. Certains n'ont plus de médecin traitant alors que la CPAM l'exige pour leur assurer un remboursement complet. Quel est le bilan du *Pacte territoire santé* visant notamment à faciliter l'installation des jeunes médecins dans les territoires de plus en plus dépourvus.

- François Baroin pointe que de nombreux territoires ruraux comme Champagne-Ardenne sont confrontés au vieillissement des praticiens. Le risque de voir se transformer ce vieillissement en pénurie, notamment du fait que la limite d'âge de 65 ans pour être en activité est appliquée scrupuleusement, va s'accroître jusqu'à l'inégalité dans l'accès aux soins. Le bilan du *Pacte territoire santé* ? Le manque de résultats est



© S.Caillet/BSIP

criant : la faute en est aux limites administratives étanches qui empêchent de jeunes internes de s'installer dans un territoire plus proche mais dépendant d'une autre ARS, mais aussi au manque de volonté de l'État d'en assurer la réelle mise en œuvre. Ce pacte (décembre 2012) comportait 3 axes : changer la formation et faciliter l'installation des jeunes médecins, transformer les conditions d'exercice des professionnels de santé, promouvoir des investissements spécifiques pour les territoires isolés.

- Nombre de parlementaires ont réclamé au ministère de la Santé le bilan de ce Pacte comprenant 12 engagements répartis sur ses 3 axes... et ses intentions sur le *numerus clausus* appliqué en facultés de médecine.

Le ministère de la Santé répond : depuis 2012, le gouvernement s'est engagé à améliorer l'accès aux soins de proximité, réduire les inégalités entre territoires et lutter contre les déserts médicaux, 3 ans après son lancement, ce Pacte affiche(ra)it des résultats positifs.

L'un des axes concerne les projets d'exercice coordonné. Maisons et centres de santé renforcent l'attractivité des territoires pour les professionnels de santé et améliorent la qualité du suivi des soins, par une prise en charge complète des patients en un seul lieu. L'essor est significatif depuis le lancement : 174 maisons de santé pluri-professionnelles en 2012, plus de 800 en 2015.

Pour encourager l'installation de praticiens avait été créé le *Contrat d'engagement de service public* (CESP), pour les jeunes en formation (médecins, dentistes). Il leur permet de bénéficier d'une bourse en contrepartie d'une installation en zone fragile, pour une durée équivalente à celle de l'aide : 1 325 jeunes s'y sont engagés depuis sa création, près de 450 contrats ont été signés en 2014-2015.

Les *Contrats de praticiens territoriaux de médecine générale* (CPTMG) permettent de sécuriser l'installation des jeunes médecins les 2 premières années d'installation. Il a permis l'installation de plus de 500 professionnels dans des territoires manquant de médecins.

Pour assurer les urgences, on a mis en place des *Médecins correspondants du SAMU* (MCS) : 150 en 2012 et désormais plus de 500. Ils interviennent dans des territoires où l'accès aux urgences était supérieur à 30 minutes.

Le *Pacte territoire santé 2* amplifiera les actions menées depuis 2012 et innovera dans la formation et les conditions d'exercice et renforcera l'attractivité de la médecine libérale. Parmi les mesures figure l'augmentation du *numerus clausus* dans les régions en tension afin de renforcer le passage de relais entre futurs médecins et professionnels qui partant en retraite. Figurent également au Pacte : 1 000 installations de généralistes et spécialistes soutenues par des CPTMG, 700 médecins correspondants des urgences, prêts à intervenir dans des territoires isolés, 1 000 maisons de santé...

Restent des territoires sous-dotés. Permettre un accès aux soins de qualité et de proximité pour tous nécessite également la mobilisation de l'ensemble des acteurs locaux concernés : ARS, collectivités territoriales et professionnels de santé.

J.-M. M.



Pollution à la chlordécone aux Antilles

Au Sénat, Catherine Procaccia s'est enquis de l'avancée des recherches sur la chlordécone aux Antilles. Le 24 juin 2009 était publié un rapport du Sénat, au nom de l'Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques (OPECST) sur l'impact de l'usage de la chlordécone et des pesticides aux Antilles, dont elle était l'un des auteurs.

Utilisée de 1972 à 1993 comme pesticide dans les bananeraies antillaises contre le charançon, la chlordécone s'est révélée comme un polluant organique persistant, avec des conséquences sanitaires graves et des incidences environnementales importantes sur les cultures et le milieu aquatique en Guadeloupe et Martinique. Plusieurs *plans chlordécone* ont été engagés dès 1999 afin de mener des actions de prévention, à défaut de dépolluer. Car cette molécule non biodégradable pourrait persister dans les sols entre 350 et 700 ans et déjà il y a 6 ans la voie d'une dépollution par un processus de décomposition chimique paraissait devoir être recherchée. Un soutien gouvernemental aux recherches est indispensable.

Deux laboratoires semblent avoir trouvé des pistes crédibles. D'un côté, le laboratoire de l'Institut méditerranéen de biodiversité et d'écologie (IMBE) étudie l'hypothèse d'une biodégradabilité naturelle de cette molécule qualifiée d'*alien chimique*. De l'autre, le Génoscope a isolé une bactérie capable de déchlorer, voire de permettre l'ouverture de la molécule de la chlordécone mais sans trouver par quel mécanisme. Pour avancer, il lui serait nécessaire d'utiliser de la chlordécone radiomarquée au carbone 14 mais son coût (environ 30 000 euros) est prohibitif pour ce laboratoire.

Compte tenu de la pérennité de la pollution à la chlordécone dans les sols antillais et de ses conséquences à long terme sur la santé, la recherche est la seule voie d'espoir. C'est pourquoi la parlementaire souhaite savoir si le gouvernement entend coordonner les efforts de ces deux équipes et dans quel délai. Est-il prévu de dégager les moyens financiers qui leur permettront d'envisager une dépollution des sols.

Réponse attendue du secrétariat d'État auprès du ministère des Affaires étrangères et du développement international, chargé notamment des Français de l'étranger, à qui a été transmise la question.

J.-M. M.



Lyme: DO, veille européenne, pas demain la veille...

Parmi d'autres parlementaires, le sénateur Rachel Mazuir avait informé le ministère de la Santé des inquiétudes de milliers de patients atteints de maladie de Lyme, qui concerne aujourd'hui la quasi-totalité du territoire national, hors zones de haute altitude, avec, selon le Haut conseil de la santé publique (HCSP, mars 2014) 27 000 nouveaux cas/an. Peu de professionnels de santé sont formés au diagnostic. Si la morsure est récente le diagnostic est aisé et le traitement rapidement prescrit, il en va autrement si elle est ancienne; or la détection précoce de la maladie est essentielle dans la mesure où elle est seule à permettre un traitement efficace.

Un diagnostic tardif entraîne une progression de la maladie, pouvant être à l'origine de symptômes lourds parfois irréversibles. À ce jour en France seuls les tests en ELISA sont autorisés, dont la fiabilité est remise en cause, d'autant qu'ils ne portent que sur une seule souche du pathogène (*Borrelia*) alors qu'en Europe on en dénombre au moins cinq. D'autres tests plus sûrs sont pratiqués en Allemagne, et sont réclamés par les patients français.

Après publication du rapport du HCSP sur la borréliose de Lyme, dit le ministère une réflexion a été engagée pour définir des repères pratiques pour les professionnels de santé sur sa prise en charge et renforcer l'information de la population sur les mesures limitant le risque de morsures de tiques, en lien avec l'Institut national de prévention et d'éducation pour la santé (INPES). Des documents INPES sont en cours de rédaction, ils sont publiés ce printemps, avant la période de prolifération des tiques.

La DGS a notamment saisi l'InVS pour une amélioration de la surveillance, y compris une **déclaration obligatoire (DO)**, l'InVS estimant que les systèmes actuels répondent aux objectifs de surveillance de la borréliose, certaines caractéristiques de la maladie, sa fréquence importante et la difficulté de définition de cas, rendant difficile une déclaration obligatoire! L'InVS rappelle que, depuis 2010, on réfléchit sur la pertinence et la faisabilité d'une surveillance européenne et selon les experts réunis par l'*European centre for disease prevention and control* (ECDC, Stockholm), *une surveillance européenne par déclaration obligatoire ne serait ni faisable ni pertinente!*

Une autre réflexion (2015-2019) évaluera l'efficacité du recueil de données dans 5 pays pour formuler des recommandations de surveillance des maladies à tiques non à DO.

• **Concernant le diagnostic**, suite à la saisine de la DGS sur la performance des tests sérologiques de la borréliose dans le cadre du Contrôle national de qualité, l'ANSM a évalué le résultat des sérologies de Lyme en fonction de plusieurs réactifs. Ce contrôle a montré les bonnes performances des réactifs de

dépistage en routine sur l'ensemble du territoire mais a mis en évidence la nécessité d'améliorer l'information des biologistes sur l'interprétation du résultat du dépistage selon la clinique et l'épidémiologie. Une formation des biologistes a été assurée le 3 novembre par la Société française de microbiologie, information accessible sur www.sfm-microbiologie.org.

Le projet de loi de modernisation du système de santé prévoit, dans les projets régionaux de santé, la sensibilisation de la population et la formation des professionnels de santé à la prévention des maladies vectorielles.

J.-M. M.

Sournoise, la fibrillation auriculaire ?

Le sénateur Michel Le Scouarnec dramatise pour le ministère de la Santé la fibrillation auriculaire, qu'il nomme à l'anglaise atriale, derrière cette *appellation barbare*, dit-il, se cache un *mal sournois*, peu connu et peu identifié par nos concitoyens, impliqué dans 1 AVC sur 5. Longtemps asymptomatique, son diagnostic est posé quand le patient consulte pour douleur thoracique, palpitations, asthénie, dyspnée. Si la consultation tarde, cette pathologie peut être dramatique: les AVC par fibrillation auriculaire sont plus graves. Ainsi 50 % d'entre eux entraînent une mortalité dans l'année contre 30 % pour les AVC d'autres causes. Quelles mesures sont envisagées pour informer le public sur ce type d'AVC et doter la cardiologie des moyens financiers, matériels et humains de traiter cette pathologie ?

Réponse du ministère: la fibrillation atriale (FA) est le trouble du rythme cardiaque le plus fréquent, surtout lié à l'âge: elle touche 17 % des plus de 85 ans. Ses complications sont liées au risque thromboembolique, d'AVC ischémiques et d'insuffisance cardiaque, selon la pathologie cardiaque sous-jacente. L'enjeu-

clé du traitement est de prévenir la survenue de ces accidents, en plus de la prévention et de la prise en charge des cardiopathies sous-jacentes. La confirmation du diagnostic et surtout la décision thérapeutique en fonction du rapport bénéfice/risque du traitement doivent être soigneusement pesées selon la situation de chaque patient. C'est dans ce sens que la HAS a publié en février 2014 un guide du parcours de soins de la fibrillation *atriale*, pour les professionnels de santé, constituant une mise à jour des bonnes pratiques. De façon générale, le problème de la fibrillation *atriale* s'intègre à la correction des facteurs de risque d'AVC; affirme le ministère, suite au Plan national d'action AVC 2010-2014. ■■

Jean-Marie Manus

